

Untersuchungen
über einen bei der Myasthenia gravis
nachweisbaren Serumfaktor

Erika Sacher

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. Dr. Gustav Bodechtel

UNTERSUCHUNGEN ÜBER EINEN
BEI DER MYASTHENIA GRAVIS
NACHWEISBAREN SERUMFAKTOR

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Erika Sacher

aus
Karlsbad



München 1957

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Privatdozent Dr. Erbslöh

Dekan: Prof. Dr. Büngeler.

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 1957

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung und geschichtlicher Rückblick	1
Methodik	3
Anamnesen und Befunde der Versuchspersonen	8
Ausführung der Versuche	13
1. Wirksamkeit des Myasthenikerserums	15
2. Kontrollversuche mit Normalserum	21
3. Kontrollversuche mit Myasthenikerserum	
a) ohne Arbeit und Stauung gewonnenes Serum	22
b) mit Arbeit und Stauung gewonnenes Serum	25
4. Statistische Auswertung	26
5. Untersuchung der Veränderungen des Myasthenikerserums in vitro	30
6. Untersuchungen des verdünnten Myasthenikerserums	33
7. Untersuchung über die Wirksamkeit der Milchsäure	34
8. Entaktivierungsversuche	39
a) durch Erhitzen von Myasthenikerserum	39
b) durch Ultrafiltration des Myasthenikerserums	45
c) durch chemische Behandlung des Myasthenikerserums	53
Diskussion	60
Zusammenfassung	65
Literaturverzeichnis	67



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555403_0070

EINLEITUNG UND GESCHICHTLICHER ÜBERBLICK

Wenn man die Literatur über die letztlich in ihrer Pathogenese ungeklärte Myasthenia gravis pseudoparalytika sichtet, so findet man diese Krankheit zum ersten Male 1878 beschrieben, und zwar von W. Erb in einer Arbeit "Über einen neuen, wahrscheinlich bulbären Symptomenkomplex". Die typischen Symptome wie Ptose, Doppelbilder, Schwäche der Kau- und Schlingmuskeln und der Zunge, der mimischen und der Nackenmuskulatur sowie die gelegentliche Beteiligung der Extremitäten werden erwähnt. Ferner wird auf den wesentlichen Faktor der Ermüdung beim Auftreten der Lähmung hingewiesen. Schon Erb fiel die erhebliche Neigung zu Remissionen auf, das Erhaltenbleiben des Muskelvolumens und das Fehlen von Sensibilitätsstörungen sowie das Vorkommen vegetativer Anomalien (Tachycardie, Speichelfluß u. a.).

Erb war es klar, daß eine eigenartige, von allen ihm bekannten Bulbärleiden verschiedene Erkrankung vorlag, die er als eine "zentrale, innerhalb des Gehirns zu suchende Erkrankung" deutete, zumal er keine anatomischen Befunde erheben konnte.

1887 nahm H. Oppenheim das Thema wieder auf. Seine langen klinischen Beobachtungen an Patienten mit den Erscheinungen einer "Bulbärparalyse mit negativem histologischen Befund" veranlaßten ihn dazu, den Prozeß als eine "chronisch progressive, tödlich verlaufende Neurose vorwiegend des Zungen- und Schlunlippengebietes" anzusprechen.

In den folgenden Jahren wurde man dann in steigendem Maße auf das Leiden aufmerksam. Bedeutend und interessant sind die Arbeiten von Remark und vor allen von Goldflamm 1891 und 1893, der das Symptom der Lähmung durch Ermüdung und ihr rasches Schwinden durch Ruhe hervorhob und diese abnorme Ermüdbarkeit mit dem Namen "Apokamnose" belegte.

Die Erkenntnis dieser Ermüdungslähmung erfuhr eine Vertiefung durch den französischen Histologen Justin Jolly. 1891 fand und bewies Jolly anhand des myoelektrischen Verhaltens, daß die Ermüdungslähmung nicht nur die aktive sondern auch die reaktive Motilität beeinträchtigt. Die charakteristische, nach Jolly benannte Reaktion des myasthenischen Muskels besteht darin, daß nach

länger dauernder faradischer Reizung die Muskelkontraktion immer mehr abnimmt, bis sie je nach Reizstärke früher oder später schwindet. Nach einer Erholungspause kontrahiert sich der Muskel zunächst wieder normal. Dieses absolut charakteristische Symptom, das sich trotz mancher ähnlicher Beobachtungen bei keiner anderen Neuro- und Myopathie so regelmäßig findet, bezeichnete Jolly als "myasthenische Reaktion" und die Krankheit als *Myasthenia gravis pseudoparalytica*. Damit hat die Krankheit den Namen, den sie bis heute als den passendsten trägt. In der französischen Literatur findet man daneben noch die Bezeichnung Erb-Goldflammsche Krankheit.

Seit der Entdeckung der Myasthenie und den ersten Bearbeitungen wurde das Problem dieser verhältnismäßig seltenen, interessanten und durch schließlich irreversible bulbäre Ausfallserscheinungen überaus tragischen Krankheit von den verschiedensten Gesichtspunkten aus betrachtet und untersucht. Es zeigte sich, daß die Myasthenie in allen Lebensaltern ja sogar bei kleinen Kindern vorkommen kann. Am häufigsten findet man sie jedoch bei Frauen im zweiten bis dritten Lebensjahrzehnt. Da das Leiden sowohl in sämtlichen europäischen Ländern als auch in Nordamerika, China und Japan vorkommt, ist die Autorenzahl groß, die sich mit dem Krankheitsbild bis heute beschäftigt. Das Wissen um die Vielförmigkeit des Symptomenbildes ermöglicht es dem Kliniker, die Myasthenie zu diagnostizieren, auch wenn die von Erb ursprünglich in den Vordergrund des Syndroms gestellte "Bulbärparalyse" bisweilen fehlt.

Neben der Symptomatik und Diagnostik seien hier nur einige Themen und Untersuchungsrichtungen aufgezählt, mit denen sich zahlreiche Bereiche über die Myasthenie beschäftigen: Die Häufigkeit und das Verhältnis der verschiedenen Formen zueinander, die Beziehungen zu Generationsvorgängen und innersekretorischen Störungen, körperlichen Belastungen und Infektionen, sowie Avitaminosen; die Kombination mit Thymustumoren und das Vorkommen von trophischen Veränderungen an der quergestreiften Muskulatur sowie vor allem die verschiedenen Versuche, die Pathogenese dieser mysteriösen Erkrankung aufzuklären. Für die pathogenetische Fragestellung als Ausgangspunkt jeder Therapie war die Feststellung grundlegend, daß es sich bei der *Myasthenia gravis pseudoparalytica* im Gegensatz zu anderen Myopathien um keine Erbkrankheit handelt. Eine breit angelegte biochemisch experimentelle Forschung führte zu der Erkenntnis, daß bei der Myasthenie ein charakteristischer humoraler Faktor vorhanden ist, der die neuromuskuläre Erregungsübertragung hemmt. Für die Auffindung von geringsten Wirkstoffmengen, über de-

ren chemische Zusammensetzung und Eigenschaften noch keine absolute Klarheit besteht, besitzen biologische Auswertungsmethoden wegen ihrer meist sehr großen Empfindlichkeit eine wesentliche Bedeutung. Sie sind in dieser Hinsicht der rein chemischen Analyse überlegen. Daher war die Entwicklung einer geeigneten tierexperimentellen Nachweismethode notwendig und grundlegend.

Das von E. Koch und F. Baumgarten entwickelte Froschherzpräparat, das von diesen Autoren und Möckesch zum Nachweis des im Bienenhonig enthaltenen Azetylcholins verwendet wurde, hat sich für den Nachweis des Myastheniefaktors gut bewährt. Mit diesem Präparat wurde kürzlich von M. Löw eine Untersuchungsreihe über den Nachweis von Gewebshormonen, speziell von Azetylcholin sowie von einem charakteristischen bei der Myasthenie vorkommenden humoralen Faktor durchgeführt. Die Tatsache, daß auch zahlreiche andere Autoren (Struppler) aufgrund ihrer Versuchsergebnisse das Auftreten von humoralen Blockadestoffen bei der Myasthenie annehmen, legt es nahe, das hochempfindliche Testverfahren, wie es am sogenannten Cavafrosch möglich ist, in den Dienst dieses Problems zu stellen.

Diese vorliegende Arbeit berichtet über Untersuchungen des Myasthenikerserums am Cava-Frosch. Die Aufgabe besteht dabei im Nachweis eines spezifischen humoralen Faktors im Myasthenikerserum und in der Klärung seiner Eigenschaften sowie seines Verhaltens unter verschiedenen biologischen, chemischen und physikalischen Bedingungen. Die Beobachtungen werden den Ergebnissen gegenübergestellt, die bei vergleichsweise mit Normalserum angestellten Versuchen erhalten werden.

METHODIK

Als Versuchstiere werden Grasfrösche (*Rana temporaria sive fusca*) gewählt. Diese sind nach den Beobachtungen von Lazar bei der Azetylcholintestung wesentlich leistungsfähiger als Esculenten. Die Tiere werden am besten in einem dunklen, feuchten Behälter bei einer Temperatur von ca. 15 Grad aufbewahrt. Sie brauchen nicht gefüttert zu werden, wohl aber muß man das Wasser nach jeweils zwei Tagen erneuern. Die Haltbarkeit, Empfindlichkeit der Frösche und die Zuverlässigkeit der gleichmäßigen Reaktion ist in den Wintermonaten am günstigsten; die Versuche werden deshalb in den Monaten November bis März durchgeführt.

Die Präparation des Versuchstieres:

Mit einer Schneidefeder wird durch einen raschen Suboccipitalstich das Rückenmark durchtrennt. Dabei kommt es zu einer stärkeren Schleimabsonderung am ganzen Körper, eine Kiefersperre und ein Epistotonus tritt ein. Mit einem steifen Draht wird dann die Medulla, das Gehirn und das Rückenmark unter Drehbewegungen zerstört. Um einen Blutverlust zu verhindern wird die Einstichstelle unter der Squama occipitalis mit einem zugespitzten Streichholz verstopft. Die Muskulatur ist nun völlig erschlafft, vorausgesetzt, daß die Ausbohrung des Rückenmarks vollständig war.

Mit einer Schere durchtrennt man die Bauchhaut in einem Längsschnitt, der vom Kiefer bis zum After reicht. Sodann wird das Sternum gespalten und das Herz unter sorgfältiger Entfernung des Herzbeutels freigelegt. Bei diesem Arbeitsvorgang verwendet man eine frische Schere, um eine Übertragung von herzwirksamen Stoffen, die in der Bauchhaut des Frosches enthalten sind, zu vermeiden. Um die Vena cava aufsuchen zu können, durchschneidet man die Bauchmuskulatur etwas links oder rechts von der Mittellinie. Wichtig ist dabei, daß die medial verlaufende Vena abdominalis geschont wird. Der Kreislauf soll über dieses Gefäß als Kollaterale erhalten bleiben. Man findet die Vena cava, indem man die Eingeweide und bei den Weibchen die Ovarien etwas zur Seite schiebt. Das dünne Bindegewebshäutchen, welches das Gefäß umgibt, kann durch Unterschieben einer Pinzette gelöst werden. Sodann unterbindet man die freipräparierte Vene so distal wie möglich mit einem Seidenfaden. Proximal von dieser Ligatur schneidet man mit einer kleinen spitzen Schere das Gefäß an, führt eine rechtwinklig gekrümmte stumpfe Kanüle ein und befestigt diese mit einer Ligatur, um ein Herausgleiten zu verhindern. Die richtige Lage der Kanüle in der Vene kann man am Blutaustritt aus dem Kanülenkonus erkennen. Um ganz sicher zu sein, injiziert man anschließend 0,05 ccm einer froschphysiologischen Ringerlösung und beobachtet die Ventrikelfüllung. Es ist anzustreben, daß die Präparation nicht länger als 10 Minuten dauert, daß ein möglichst geringer Blutverlust eintritt und daß die Temperatur des Arbeitsraumes 20 Grad nicht überschreitet. Durch regelmäßiges Befeuchten mit isotonischer Kochsalzlösung verhindert man ein Austrocknen des Präparates,

Die Herzen der männlichen Tiere eignen sich, selbst wenn sie kleiner als die der weiblichen sind, für diese Methode besser als die weiblichen. Ihre Aktion ist kräftiger, die Reaktion gleichmäßiger und die Schlagfrequenz regelmäßiger.

Zur Registrierung der Herztätigkeit werden die Bewegungen der suspendierten Herzspitze über eine Rolle auf einen Schreibhebel übertragen, der sie wiederum auf einem Rußkymographion verzeichnet. Gleichzeitig erfolgen nach zweckmäßig gewählten Intervallen Zeitmarkierungen durch einen Markierungsmagneten. Auf diese Weise kann man sich über die Herzfrequenz leicht orientieren. Durch Fixieren des Herzens an der Atrioventikulargrenze kommt ausschließlich die Ventrikeltätigkeit zur Verzeichnung.

Am Präparat kann man in Abständen von 5 Minuten 0,1-0,2 ccm einer isotonischen Lösung injizieren. Die Lebensdauer des Herzens ist jedoch länger, wenn der Kreislauf nicht so stark überfüllt wird. Man injiziert deshalb kleinere Mengen von 0,05-0,1 ccm. Der gleichbleibende Zustand des Herzens wird an der Suspensionskurve sichtbar. Diese weist bei der Gabe von froschphysiologischer Kochsalzlösung außer einem kleinen Mehrfüllungseffekt keine Veränderungen auf. Gibt man jedoch eine wirksame Testsubstanz, dann muß die Injektionshäufigkeit meist vermindert werden. Bestimmend hierfür ist die Art der Testlösung. Handelt es sich z. B. um Azetylcholin, so können die Injektionen schon nach 5 Minuten wiederholt werden, da sich in dieser Zeitspanne der anfängliche Zustand wiederhergestellt hat. Eine solche konstante Reaktionslage trifft man besonders bei den Winterfröschen an; sie ist eine Voraussetzung für die Brauchbarkeit des Froschherzpräparates als biologisches Testobjekt.

In dieser Arbeit wird die Beeinflussung des bekannten Azetylcholineffektes auf das Froschherz durch Myasthenikerserum untersucht.

Da die Reaktionslage der einzelnen Versuchstiere nicht gleich ist, muß die vergleichende Testung verschiedener Substanzen jeweils an ein und demselben Tier durchgeführt werden. Die Konstanz der Reaktionslage des Tieres muß vor jedem Versuch geprüft und gesichert sein. Das ist der Fall, wenn die Wirkung bei drei aufeinanderfolgenden Injektionen einer bestimmten Azetylcholinkonzentration gleich bleibt. Die Dosis der injizierten Lösungen (Azetylcholin, Ringer, Normalserum, Myasthenikerserum und Milchsäure) muß, nachdem ihre optimale Größe empirisch ermittelt worden ist, ganz genau eingehalten werden. Man verwendet hierzu eine Tuberkulinspritze. Eine Fehlerquelle entsteht durch Luftansammlung im Kanülenhals und durch Rückfluß von Blut aus dem Herzen in die Kanüle. Man schaltet sie dadurch aus, daß man vor jedem Versuch die Luft durch Ringerlösung verdrängt und von der zu injizierenden Lösung eine dem Volumen der Kanüle entsprechende Menge vorspritzt. Sie beträgt 0,03 ccm. Besonders zu beachten ist ferner die konstante

Injektionsgeschwindigkeit. Sie beträgt bei Azetylcholin 3 Sekunden, bei Serum 6 Sekunden. Auch die Lage der Kanüle soll nach Möglichkeit unverändert bleiben, damit die Herzaktion nicht mechanisch gestört wird. Das Volumen der Azetylcholinlösung wird auf 0,05 ccm, die der Sera und der Milchsäure auf 0,2 ccm festgelegt. Es sind dies willkürlich gewählte Größen, die erfahrungsgemäß eine Wirkungsveränderung des Azetylcholins durch Myasthenikerserum am deutlichsten erkennen lassen.

Im Gegensatz zu den gleichbleibenden Dosen müssen die Konzentrationen des Azetylcholins bei den verschiedenen Tieren oft auch bei dem gleichen Tier variiert werden. Ausschlaggebend dafür ist die Empfindlichkeit des Präparates, die sich zuweilen im Laufe des Versuchs ändern kann. Eine solche Änderung muß sofort registriert werden. Schwankungen treten besonders zu Versuchsbeginn auf. Grundsätzlich ist wichtig, daß gleichbleibende Azetylcholinwirkungen erzielt werden, bevor mit den eigentlichen Untersuchungen der Myasthenikersera begonnen wird.

Man stellt sich dementsprechend Azetylcholinlösungen verschiedener Konzentrationen her. Als Verdünnungsmittel kann froschphysiologische Ringerlösung, jedoch auch aqua dest. verwendet werden. Erstaunlicherweise wird aqua dest. gut vertragen und die Azetylcholinwirkung dadurch nicht beeinflußt. Die angesetzten AzetylcholinKonzentrationen liegen zwischen 10^{-3} und 10^{-11} . Man beginnt mit der Injektion der niedrigsten Konzentration und beobachtet ihre Wirkung, woraus man auf die Empfindlichkeit des Tieres schließen kann. Ist die Empfindlichkeit groß, so kann weiter verdünnt werden, ist sie gering, so muß mit höheren Konzentrationen gearbeitet werden. Die Wirkung des Azetylcholins am Froschherzen wird später beschrieben. Bei der Injektion muß ferner eine eventuelle Inaktivierung des Azetylcholins durch Blut in der Kanüle (Cholinesterase) mittels der oben erwähnten Vorsichtsmaßnahmen vermieden werden. Die Temperatur der Lösung kann der Zimmertemperatur (ca. 20 Grad) entsprechen. Die Lösungen müssen vor der Verwendung frisch hergestellt sein, wenn ihre Wirksamkeit gesichert sein soll.

Bei der Gewinnung der Sera ist eine Reihe von Vorschriften zu beachten.

1. Die Entnahme des Myasthenikerblutes aus der Cubitalvene soll zur gleichen Zeit erfolgen wie die Entnahme des vergleichsweise im Leerversuch untersuchten Blutes vom Gesunden.
2. Die Art der Entnahme soll gleich sein.
3. Der Patient sowie die gesunde Versuchsperson muß nüchtern sein und darf nicht unter dem Einfluß irgendeines Medikamentes stehen.

4. Das Blut muß möglichst rasch abgekühlt und 5 Minuten lang zentrifugiert werden.
5. Die Sera, die weder lipämisch noch hämolytisch sein dürfen, müssen gleicher Temperatur ausgesetzt sein und möglichst bald verwertet werden.

Entnommen werden jeweils 10 ccm Blut. Das Einhalten der gleichzeitigen Blutentnahme soll das Auftreten von Wirkungsdifferenzen vermeiden, die durch Wirkungsabnahme des Serums in vitro entstehen könnten. Die Blutentnahme selbst wird bei einem Teil der Versuche nach Art des Drosselungsversuchs von Grosse-Brockhoff und Welte durchgeführt. Erstrebt wird damit eine Anreicherung des bei der Myasthenie angenommenen aus der Peripherie stammenden Faktors im Blut. Man kann dies erreichen, indem man mit einer Blutdruckmanschette über den systolischen Blutdruck staut und die Versuchsperson bis zur Ermüdung die Hand zur Faust schließen und wieder öffnen läßt. Die Ermüdung tritt beim Myastheniker früher (nach 1-2 Minuten) als beim Gesunden ein.

Der nüchterne Zustand der Versuchsperson wird vorgeschrieben, um eine etwaige Beeinträchtigung des Versuchsergebnisses durch lipämische Veränderungen des Plasmas zu vermeiden. Die myasthenische Versuchsperson darf 24 Stunden vor der Blutentnahme kein die Krankheit beeinflussendes Medikament eingenommen haben, es sei denn, man will die Wirkung des Medikamentes untersuchen.

Die Notwendigkeit einer raschen Serumgewinnung und baldigen Verwertung im Versuch wird klar, wenn man bedenkt, daß das Blut ein lebendes Gewebe und als solches labil ist. Nach seiner Loslösung vom Gesamtorganismus kommt es zu fortschreitenden physiologisch-chemischen Veränderungen, die um so rascher vor sich gehen, je höher die umgebende Temperatur ist. Eine weitere Tatsache, daß fermentative Prozesse bei niederen Temperaturen langsamer ablaufen, läßt es angebracht erscheinen, das gewonnene Serum entweder in Eiswasser oder in einem Eisschrank aufzubewahren.

Die Blutentnahme und die Gewinnung der Sera soll nicht mehr als 20 Minuten in Anspruch nehmen. Die Zuverlässigkeit der eigentlichen Versuchsergebnisse ist also abhängig von der flinken und genauen Durchführung der Vorbereitungen.

ANAMNESEN UND BEFUNDE DER VERSUCHSPERSONEN MIT MYASTHENIE

Das Myasthenikerserum stammte in unseren Versuchen von drei Patientinnen, von denen eine in ambulanter und zwei in stationärer Behandlung standen. Das Normalserum wurde von gesunden Personen entnommen. Bei den Kranken handelt es sich um zwei schwere und einen mittelschweren Fall. In Folgendem seien die Anamnesen und die Befunde der Patientinnen wiedergegeben.

Fall 1.

Vogel Rosa, 50 Jahre.

- Vorgeschichte:** Geordnete familiäre Verhältnisse, Menarche mit 20 Jahren, keine Geburt, kein Abort. Kein Nikotin oder Alkoholabusus.
- Familienanamnese:** Keine Erbkrankheiten, Geisteskrankheiten, Nervenkrankheiten oder Tuberkulose.
- Eigenanamnese:** Patientin hatte keine Kinderkrankheiten.
1926 Bauchfell und Eileiterentzündung.
1938 Bruch des vierten Lendenwirbelkörpers durch Sturz.
- Jetzige Erkrankung:** Seit 1945 Doppeltsehen. Schwinden der Kraft in den Händen, Armen und Beinen. Häufiges Urinieren. Zunehmende Schluck- und Sprachstörungen. Nach vierwöchentlicher klinischer Behandlung Besserung aller Beschwerden. Bis 1952 gleichbleibender Zustand. Durch regelmäßiges Einnehmen von Prostigmin schwinden Augenmuskelerkrankungen, Schluck- und Miktionsbeschwerden. Rückkehr der Muskelkraft, der Appetit ist gut, der Stuhlgang regelmäßig, die Periode alle vier Wochen normal.
- Befund:** Ernährungszustand gut. Haut und sichtbare Schleimhäute gut durchblutet. Keine Ödeme, Varizen oder Exantheme. Die gleichweiten runden Pupillen reagieren gut auf Licht und Konvergenz; nur bei Geradausblick sieht Patientin Doppelbilder. Die

Zunge feucht und nicht belegt. Tonsillen und Rachenringe o. B.

Hals: Kein Struma, keine Drüsenschwellung, keine Einflußstauung.

Thorax: Beide Lungenflügel gleichmäßig und gut beatmet. Lungengrenzen normal und gut verschieblich, Klopfeschall normal und Vesiküläratmet. Herz: Linksverbreitert, regelmäßige und reine Herztöne. P_2 betont. Abdomen: Leber überragt den Rippenbogen um einen Querfinger, ihre Oberfläche ist glatt. Milz nicht vergrößert. Nierenlager: Frei.

Extremitäten:

Arme und Beine sind in allen Gelenken frei beweglich. Keine Muskelatrophie. Die grobe Kraft ist an Armen und Beinen sehr herabgesetzt.

ZNS:

Rechter Abducens etwas gelähmt. Facialis o. B. Oberarm- und Unterarmreflex seitengleich und normal auslösbar. Meyer, Trömmer o. B., Bauchdeckenreflex o. B. PSR seitengleich und lebhaft auslösbar. ASR auf beiden Seiten normal. Kein Patellar- oder Fußklonus. Oppenheim und Gordon $\emptyset$. Babinski $\emptyset$. Hautsensibilität o. B. Tiefensensibilität o. B., Mendel-Bechterew negativ, Kniehackenversuch o. B., keine Ataxie.

Verlauf:

Bei der myographischen Untersuchung hat sich eine typische Myasthenie erwiesen. Keine Hypokaliämie. Auch das Ca ist normal. Röntgenologisch kein Thymustumor feststellbar.

Befund am 4.4.1955:

Abducensschwäche, links stärker als rechts. Keine pathologischen Reflexe, Sprache abgehackt und kloßig. Die Patientin ermüdet rasch. Erhaltungsdosis 3 bis 4 Tabletten Prostigmin, eine Tablette Mestinin in der Nacht. Stärkere Kreuzschmerzen. Nach Grippe Durchfälle und besondere Schwäche. Es wurden langsam ansteigend täglich 6 halbe Tabletten Prostigmin forte, unterstützt durch 6 halbe Tabletten Ephetonin und 3 mal 2 Tabletten Benaden gegeben.

Die Auswertung des seitlichen Schichtbildes durch das obere Mediastinum ergab keinen

Hinweis für eine Thymushyperplasie. Etwas verbreitete Halsweichteile. Nach Thymusbestrahlung wurde eine deutliche Besserung verspürt.

Fall 2.

Wunschel Anna, 35 Jahre.

- Familienanamnese: Zittern der Hände bei mehreren Familienmitgliedern.
- Eigenanamnese: Als Kind Masern, Keuchhusten und häufige Mandelentzündung, mit 16 Jahren Scharlach, mit 18 Jahren Tonsillektomie, mit 19 Jahren Lungentuberkulose, mit 23 Jahren starke Gelbsucht, mit 24 Jahren Prellungen an den Knien. Seit der Kindheit kalte Hände und Füße.
- Jetzige Erkrankung: Schon in der Schulzeit nach kurzfristigen Anstrengungen Ermüdung der Arm-Bein- und Schultermuskulatur. Gleichgewichtsstörungen und Schwindel. Im 8. Monat der bisherigen einzigen Gravidität rasche Verschlechterung der Muskelkrankung; Kopf kann nicht mehr aufrecht gehalten werden, er sinkt nach vorne, Arme sind nicht mehr über die Schulterhöhe zu erheben, krampfartige Beugung der Finger. Nach normalem Partus Zwangsweinen, Doppelsehen, starke Ptosis; das Kauen wird ebenso wie das Sprechen sehr erschwert, manchmal für Stunden ausgeschlossen. Nach peroralen Prostigmingaben für mehrere Stunden Bewegungsfreiheit der Muskulatur; ohne medikamentöse Behandlung aber völliges Schwinden der Kraft.
- Befund:
- Kopf: Processus mastoideus nicht durchkempfindlich, Nervenaustrittsstellen frei.
- Hals: Mäßige Struma. Keine Lymphdrüschwellung, keine Einflußstauung.
- Thorax: Klopfschall im linken Unterfeld leicht abgeschwächt, Grenzen gut verschieblich. Vesikuläratmen.

Herz: Leise systolische Unreinheit über der Herzspitze.
Abdomen: Keine Abwehrspannung. Rechte Adnexgegend druckschmerzhaft, sonst o. B.
Extremitäten: Aktiv und passiv frei beweglich. Keine Ödeme, keine Varizen. Sehr schlanke Finger.
ZNS: Pupillen rund, gleichweit, reagieren auf Licht und Konvergenz. Hirnnerven ohne pathologischen Befund. Bauchdeckenreflex nicht auslösbar, keine Pyramidenzeichen. Keine Störung der Sensibilität.
Muskulatur der Patientin ohne Prostigmin: Vollkommen kraftlos.
Thymus: Röntgenologisch nicht vergrößert.
Blutcalciumspiegel: Normal.
Urin: o. B.
Blutbild: normal.

Fall 3.

Rühle Evelin, 25 Jahre alt, unverheiratet.

Familienanamnese: Die Familienverhältnisse, in denen die Patientin aufwuchs, waren geordnet. Schwerere Erkrankungen waren bei den Eltern nicht feststellbar.
Eigenanamnese: Patientin hatte in ihrem vierten Lebensjahr Masern und Variola. Mit neun Jahren erkrankte sie an Diphtherie; 1943 an Scharlach. Danach trat eine Gaumensegellähmung auf, die mit Sprachstörungen verbunden war. Eine gewisse Schwäche der oberen Extremitätenmuskulatur wurde zu gleicher Zeit festgestellt.
Jetzige Erkrankung: 1919, im 19. Lebensjahr der Patientin, trat zum ersten Mal nach Überanstrengung Schwäche der Beinmuskulatur auf. Gleichzeitig machten sich Sehstörungen, mimische Schwäche und Ptosis bemerkbar. Etwas später kam leichte Ermüdbarkeit der Zunge und Schwere der Nackenmuskulatur hinzu. Zuletzt war die Extremitätenmuskulatur rasch und hochgradig ermüdbar und schlecht erholungsfähig.
Zunächst wurde Prostigmin, etwas später Mestinon.

angewandt. Auf beide Medikamente trat rasche Besserung ein, die 15 bis 20 Stunden anhielt, so daß die Patientin ambulant behandelt werden konnte. Die jetzige optimale medikamentöse Dosis ist auf zwei mal täglich 60 mg Mestinon eingestellt. Dabei ist ihr Zustand annehmbar, so daß sie ihren Beruf als technische Zeichnerin ausüben kann. Schwer fällt das Heben beider Arme über die Waagrechte hinaus.

Befund:

Allgemein:

Patientin ist in gutem somatischem Zustand, 172 cm groß und hat 65 kg Körpergewicht. Die Haut ist etwas bleich, die sichtbaren Schleimhäute aber gut durchblutet. Die Zunge ist etwas angeschwollen, aber nicht belegt und normal feucht. Die Tonsillen sind entfernt. Der Rachen ist o. B. Der diastolische Blutdruck ist etwas erniedrigt, der systolische normal.

Hals:

Leichte Drüsenschwellung, keine Strumabildung.

Thorax:

Beide Lungen sind röntgenologisch o. B., ihre Grenzen im normalen Bereich verschieblich. Herz und Herztröne normal.

Abdomen:

o. B.

Extremitäten:

Leichter Muskelschwund. Bewegungen, besonders der oberen Extremitäten, sind etwas verlangsamt.

Wirbelsäule:

Im Bereich des siebten Halswirbels schwach skoliotisch.

Zentralnervensystem:

Die normalen Pupillen reagieren gut auf Lichtreize. Hirnnerven o. B., Bauchdeckenreflex normal, Patellar- und Achillessehnenreflex abgeschwächt auslösbar. Sensibilität ist vorhanden.

AUSFÜHRUNG DER VERSUCHE

Im folgenden wird die Wirkung des Serums von drei Myasthenikern auf den Acetylcholineffekt am Froschherzen demonstriert. Die Art des experimentellen Vorgehens sei zunächst an Hand des zweiten Falles (♀ Wunschel) verdeutlicht. Die Daten der zwei weiteren Fälle sind jeweils den Legenden der folgenden Abbildungen zu entnehmen.

Versuch Nr. 1: (Siehe Abb. 1)

Nach 4 Minuten lang dauernder Arbeit, während der eine Staubinde am Oberarm angelegt war, wurde der Patientin W. das Blut aus der Cubitalvene entnommen und das Serum auf die beschriebene Weise gewonnen. Die serologischen Testversuche begannen 30 Minuten nach der Blutentnahme. Das Serum wurde bei einer Temperatur von 0 Grad aufbewahrt.

Bei der Injektion von 0,05 ccm einer Azetylcholinlösung von der Konzentration 10^{-11} kommt es beim Froschherztest wie üblich zu einer Verkleinerung der Amplitude auf 50 % des Ausgangswertes. Nach ca. 50 Sekunden ist die Ausgangshöhe der Kontraktionen wieder erreicht. Nach 3 Minuten wird die Injektion wiederholt und dieselbe Wirkung erzielt. Die Gabe von 0,2 ccm Myasthenikerserum bewirkt vorübergehend eine Steigerung der Frequenz und eine Vergrößerung der Amplitude. Die jetzt wiederholte Gabe von Acetylcholin ($0,05/10^{-11}$) verkleinert die Amplitude nur noch um 10 % des Ausgangswertes. Diese auf Myasthenikerserum erfolgte Abschwächung des Azetylcholineffektes läßt bei jeder der drei nach 3 Minuten folgenden Azetylcholingaben immer mehr nach. Schließlich ist nach 15 Minuten die ursprüngliche Stärke des Acetylcholineffektes wieder erreicht.

Die ausgesparten Flächen, welche die Azetylcholinwirkung darstellen, werden im Verlauf dieses Nachlassens der Myastheniker-Serumwirkung immer größer. Sie können planimetriert werden; so hat man eine weitere Möglichkeit, die Wirksamkeit des Myasthenikerserums exakt zu messen. Dies geschieht auf folgende Weise:

Man dividiert das Quadrat der Hubhöhe bei der Injektion durch die ausgesparte Fläche der Kurve. So erhält man einen Zahlenwert für die Wirkung einer bestimmten Menge Azetylcholin. Diese Zahl wird a) vor und b) nach der Serum-

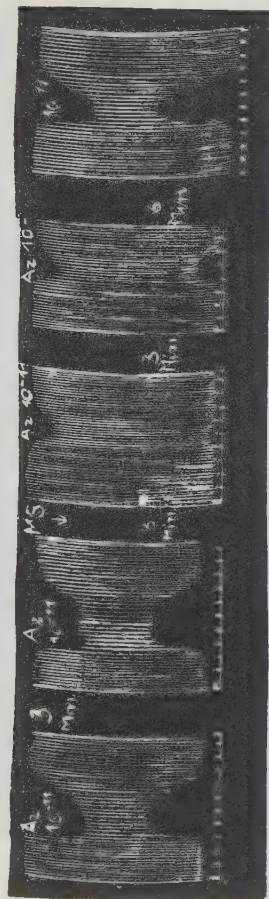
injektion ermittelt. Subtrahiert man a) von b), so erhält man einen Wert x, der das Maß für die Serumwirkung darstellt:

$$x = \frac{\text{Quadrat der Hubhöhe nach SI.}}{\text{ausgesparte Fläche nach SI.}} - \frac{\text{Quadrat der Hubhöhe vor SI!}}{\text{ausgesparte Fläche vor SI.}}$$

SI = Seruminjektion.

Abbildung 1

Versuch Nr. 1 vom 31. XII. 1955.



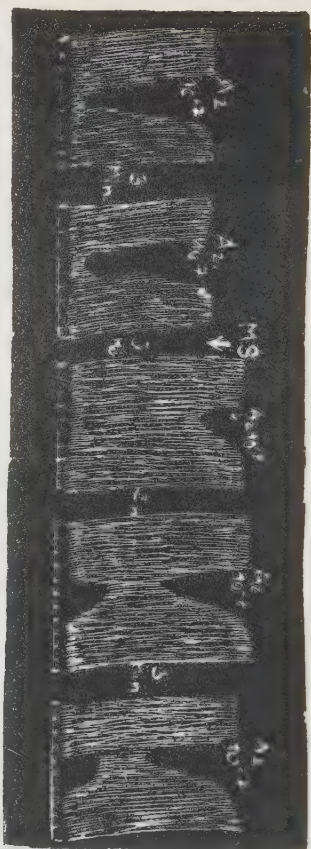
Az. = Azetylcholin

MS. = Myasthenikerserum W.

Abschwächung der Azetylcholinwirkung durch Myasthenikerserum. Näheres siehe im vorstehenden Text.

Abbildung 2

Versuch Nr. 2 vom 12. I. 1956.



Myasthenikerserum W.

Das Blut wurde eine Stunde vor Versuchsbeginn entnommen.

Temperatur des Serums = 0 Grad C.

Injizierte Serumdosis = 0,2 ccm.

AzetylcholinKonzentration = 10^{-7}

Die Azetylcholinlösung wurde eine Stunde vor Versuchsbeginn hergestellt.

Temperatur des Azetylcholins = 18 Grad C.

Injizierte Azetylcholidosis = 0,05 ccm

Zeitschreibung: 10 Sekunden.

Legende zu Abbildung 2:

Vor der Injektion des Myasthenikerserums reproduzierbare Abschwächung der Kontraktion durch Azetylcholin um ca. 80 % der Ausgangshöhe. Nach der Injektion des Myasthenikerserums nur noch eine Kontraktionsverminderung von ca. 30 % durch dieselbe Azetylcholinindosis. Die Azetylcholinwirkung nimmt jedoch im Laufe der beiden weiteren gleich großen Gaben wieder zu und bewirkt nach 12 Minuten eine Amplitudenverkürzung um wieder ca. 80 %, also entsprechend der Wirkung vor der Myasthenikerserum-Injektion.

Legende zu Abbildung 3:

Vor der Injektion des Myasthenikerserums reproduzierbare Abschwächung der Kontraktion durch Azetylcholin um ca. 90 % der Ausgangshöhe. Nach Myasthenikerserum nur noch Kontraktionsverminderung um ca. 50 % durch dieselbe Azetylcholinindosis. Die volle Azetylcholinwirkung kehrt 22 Minuten nach der Injektion des Myasthenikerserums zurück.

Abbildung 3

Versuch Nr. 3 vom 18. III. 1956



Myätheniker Serum V

Das Blut wurde zwei Stunden vor Versuchsbeginn entnommen.
Temperatur des Serums: 0 Grad C.

Injizierte Dosis: 0,2 ccm.

Konzentration des Azetylcholin: 18 Grad C.

Injizierte Azetylcholinosis: 0,05 ccm

Abbildung 4

Versuch Nr. 4 vom 1. XII. 1955



Myasthenikerserum R.

Das Blut wurde eine Stunde vor Versuchsbeginn entnommen

Temperatur des Serums: 0 Grad C.

Injizierte Dosis: 0, 2 ccm

Konzentration des Azetylcholins: 10^{-7}

Temperatur des Azetylcholins: 18 Grad C

Injizierte Azetylcholindosis: 0, 05 ccm

Zeitschreibung: 10 Sekunden

Ringelösung 0, 6 %. Injizierte Dosis: 0, 2 ccm.

Temperatur der Ringelösung: 0 Grad.

Vor der Injektion des Myasthenikerserums bewirkt das Azetylcholin einen ca. 15 Sekunden langen Herzstillstand. Nach der Injektion des Myasthenikerserums nur noch eine Kontraktionsverminderung von ca. 75 % durch dieselbe Azetylcholinlindosis. Die volle Azetylcholinwirkung wird 20 Minuten nach der Injektion des Myasthenikerserums fast wieder erreicht. Der anschließende Kontrollversuch mit Ringerlösung zeigt, daß die Azetylcholinwirkung durch Ringer nicht beeinflußt wird.

Wie auf Seite 13 und 14 beschrieben, werden nach den Angaben von Löw die gewonnenen Kurven planimetrisch und rechnerisch ausgewertet. Der Wert x ist dabei der Maßstab für den Grad der Abschwächung der Azetylcholinwirkung auf das Froschherz infolge Einwirkung des Myasthenikerserums. Zunächst werden die auf diese Weise gewonnenen Zahlenwerte aus drei zuvor abgebildeten Versuchen (2-4) gegenübergestellt:

Myasthenikerin W. : $x = 19,57$

Myasthenikerin V. : $x = 11,39$

Myasthenikerin R. : $x = 14,79$

Bemerkenswerterweise war demnach die Serumwirkung des klinisch schwersten Myastheniefalles W. am stärksten. Diese Verhältnisse werden auch bei der in der folgenden Tabelle wiedergegebenen Zusammenstellung aller Testuntersuchungen mit Serum dieser drei Patientinnen und der daraus errechneten Mittelwerte deutlich. Die Stärke der Serumwirkung in unserem Froschtest entspricht der klinischen Schwere des jeweiligen Krankheitsbildes.

Tabelle 1

Die von der Blutentnahme bis zu Versuchsbeginn verstrichene Zeit in Minuten	Serum der Myasthenikerin W	Serum der Myasthenikerin V	Serum der Myasthenikerin R
30	33,15	13,70	14,97
30	13,91	10,19	9,63
30	4,39	2,75	9,13
60	27,04	6,42	12,45
60	19,57	-----	-----
60	20,15	-----	-----
120	13,72	-----	13,95
120	10,30	-----	0,47
120	4,83	-----	0,16
120	-----	-----	1,72
180	7,89	11,39	7,38
180	5,36	9,89	1,12
180	4,00	-----	-----
180	2,34	-----	-----
Im Nenner Zahl der Versuche	166,65	54,34	70,98
Mittelwert X_m :	$\frac{14}{11,904}$	$\frac{6}{9,056}$	$\frac{10}{7,098}$

KONTROLLVERSUCHE MIT NORMALSERUM

Mit folgenden Versuchen wird geprüft, ob sich die starke Abschwächung der Azetylcholinwirkung am Cava-Frosch auch durch Normalserum erzielen läßt, und die beobachteten Wirkungen des Myasthenikerserums spezifisch sind. Das Serum wird am Gesunden auf dieselbe Weise wie das Myasthenikerserum gewonnen und behandelt. Die Dosierung und Injektion erfolgt ebenfalls unter den gleichen Bedingungen.

Abbildung 5

Versuch Nr. 5 vom 29. XI. 1955



Das Normalserum wurde eine Stunde vor Versuchsbeginn entnommen.

Temperatur des Normalserums: 0 Grad C.

Injizierte Dosis: 0,2 ccm.

Konzentration des Azetylcholins: 10^{-11} .

Temperatur des Azetylcholins: 18 Grad C.

Injizierte Dosis des Azetylcholins: 0,05 ccm.

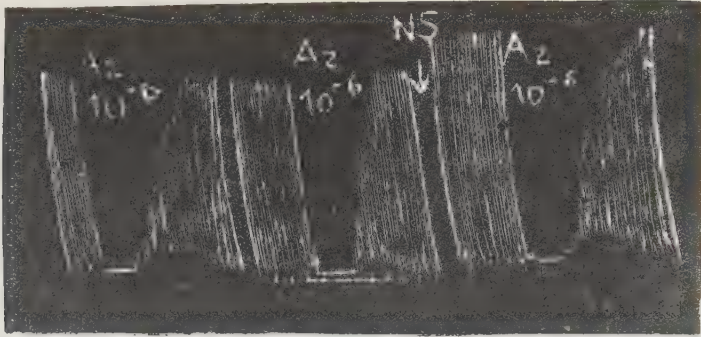
Zeitschreibung: 10 Sekunden.

Legende zu Versuch Nr. 5:

Azetylcholin führt zu einem 20 Sekunden langen Herzstillstand. Das injizierte Normalserum (nach Arbeit und Stauung), beeinflußt diese Wirkung nicht. Lediglich eine Amplitudenerhöhung um 10 % ist nach der Seruminjektion zu beobachten. Die rechnerisch ermittelte Wirkung $\times$ des Normalserums beträgt -0,19.

Abbildung 6

Versuch Nr. 6 vom 22. III. 1956.



Das Normalserum wurde 3 Stunden vor Versuchsbeginn entnommen.

Temperatur des Normalserums: -5 Grad C.

Injizierte Dosis: 0,2 ccm.

Das Blut wurde ohne Arbeit und nach ganz kurzer Stauung (2 Min.) entnommen.

Konzentration des Azetylcholins: 10^{-6} .

Temperatur des Azetylcholins: 18 Grad C.

Injizierte Dosis: 0,05 ccm.

Zeitschreibung: 10 Sekunden.

Legende zu Abbildung 6:

Auch in diesem Versuch läßt das Normalserum keine abschwächende Wirkung gegenüber Azetylcholin erkennen.

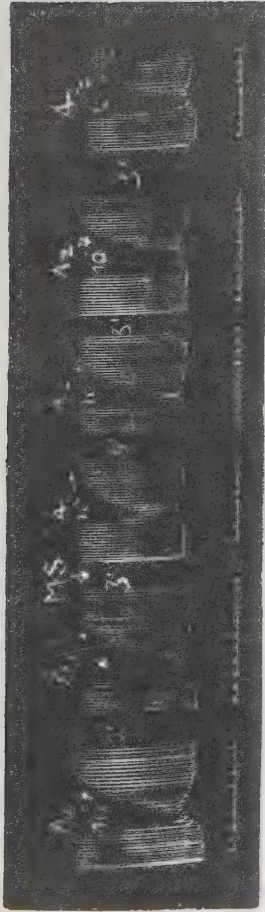
Die Azetylcholinempfindlichkeit ist in diesem Falle nach Normalserum sogar etwas größer als vorher. $x = 0,29$. Aus den Versuchen 5 und 6 sieht man, daß weder das nach ermüdender Arbeit noch das ohne Arbeit und Stauung gewonnene Normalserum die Azetylcholinwirksamkeit beeinflußt.

WEITERE KONTROLLVERSUCHE MIT MYASTHENIKERSERUM

Der im Folgenden wiedergegebene Versuch Nr. 7 soll die Wirkung des ohne vorhergehende Arbeit unter Fortfall der Venenstauung gewonnenen Myasthenikerserums (unter Grundumsatzbedingungen) prüfen.

Abbildung 7

Versuch Nr. 7 vom 17. I. 1956.



Myasthenikerserum W.

Das Blut wurde eine Stunde vor Versuchsbeginn entnommen.

Die Gewinnung erfolgte ohne Stauung und Arbeit.

Konzentration des Azetylcholins: 10^{-7} .

Temperatur des Azetylcholins: 18 Grad C.

Injizierte Azetylcholinosis: 0,05 ccm.

Zeitschreibung: 10 Sekunden.

Legende zu Abbildung 7:

Das ohne Arbeit und Stauung gewonnene Myasthenikerserum schwächt die Wirkung des Azetylcholins ab:

Vor der Injektion des Myasthenikerserums bewirkt das Azetylcholin einen Herzstillstand von ca. 10 Sekunden. Nach der Injektion von Myasthenikerserum führt dieselbe Konzentration zu einer Amplitudenverkürzung auf ca. 55 %. Nach 3 Minuten beträgt die Amplitude nach einer weiteren Azetylcholininjektion ca. 70 % der Ausgangshöhe. Nach einer 3 Minuten später folgenden gleichgroßen Azetylcholinosis und Konzentration ist die Ausgangslage wieder erreicht.

In Versuch 8 wird der auf Abbildung 7 dargestellten Wirkung des ungestauten und unbelasteten Serums der Effekt des Serums derselben Patientin jedoch nach Stauungs- und Arbeitsversuch gegenübergestellt. Es soll daraus ersichtlich werden, welchen Einfluß die Muskelermüdung und Stauung auf die Stärke der Myastheniewirkung hat.

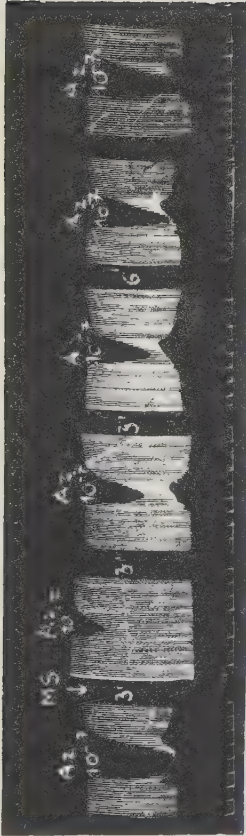
Legende zu Abbildung 8:

Vor der Myasthenikerserum-Injektion bewirkt das Azetylcholin einen 20 Sekunden dauernden Herzstillstand. Nach der Myasthenikerseruminjektion führt das Azetylcholin zu einer Verkürzung der Amplitude auf 20 % der Ausgangshöhe. Nach 3 Minuten eine Verkürzung auf ca. 70 %, nach 6 Minuten fast Herzstillstand. 25 Minuten nach der Injektion des Myasthenikerserums wirkt das Azetylcholin in gleicher Weise wie vor der Injektion. Die Ausgangslage ist also wieder erreicht.

Die Abbildungen 7 und 8 lassen die spezifische Wirkung des Serums ein und derselben Myasthenikerin deutlich erkennen: Das Serum, welches mit vorhergehendem Arbeitsversuch und Stauung **gewonnen wurde**, schwächte den Azetylcholin-Erfolg am Froschherzen deutlich stärker ab als jenes Serum, das ohne Arbeitsversuch und Stauung entnommen wurde.

Abbildung 8

Versuch Nr. 8 vom 17. I. 1956



Myasthenikerserum W. nach Arbeitsversuch und Stauung gewonnen.

Das Blut wurde 45 Minuten vor Versuchsbeginn entnommen.

Temperatur des Myasthenikerserums: 0 Grad.

Injizierte Dosis: 0, 2 ccm.

AzetylcholinKonzentration: 10^{-7}

Temperatur des Azetylcholins: 18 Grad C.

Die Azetylcholinlösung wurde 45 Minuten vor Versuchsbeginn hergestellt.

Injizierte Dosis: 0, 05 ccm.

Zeitschreibung: 10 Sekunden.

STATISTISCHE AUSWERTUNG

Um einen Überblick über die unterschiedliche Beeinflussung des Azetylcholin-erfolges durch Myasthenikerserum einerseits und Normalserum andererseits zu erhalten, werden die Durchschnittswerte der einzelnen Versuchsreihen errechnet und miteinander verglichen. Zuerst werden die x -Werte wie oben beschrieben ermittelt. Man erhält die Mittelwerte, indem man die Summe der einzelnen x -Werte einer Untersuchungsgruppe durch die Zahl der Versuche dividiert:

$$M = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

Auf diese Weise kann man zwar die Reihen grob miteinander vergleichen, doch ist noch kein statistischer Beweis für ein Merkmal etwaiger Unterschiede erbracht. Nach Koller wird zur statistischen Berechnung der Signifikanz folgender Weg eingeschlagen:

Man berechnet zuerst die mittlere Streuung, indem man die einzelnen x -Werte (das sind die Zahlenwerte der Myasthenikerserumwirkung, wie oben beschrieben) vom zugehörigen Mittelwert subtrahiert und die Summe der erhaltenen Quadrate durch die Zahlen der Versuche n weniger 1 dividiert. Die Quadratwurzel dieses Quotienten ist die mittlere Streuung $\bar{\sigma}$.

$$\bar{\sigma} = \sqrt{\frac{(x_1 - M)^2 + (x_2 - M)^2 + \dots + (x_n - M)^2}{n - 1}}$$

Wenn die Differenz der Mittelwerte ($M_a - M_b$) mindestens um den Faktor 3 größer ist als die Quadratwurzel aus dem Produkt von $\frac{2}{n}$ der ersten Reihe und $\frac{2}{n}$ der zweiten Reihe so besteht Signifikanz:

$$M_a - M_b > 3 \sqrt{\frac{a}{n_a} + \frac{b}{n_b}}$$

Tabelle 2

n	x_n	$(x_n - M_1)^2$	x_n	$(x_n - M_2)^2$
1	0,16	74,47	0,02	0,28
2	0,47	69,22	1,11	0,34
3	9,63	0,70	0,83	0,09
4	1,12	59,13	0,18	0,11
5	0,88	62,56	-0,85	1,87
6	9,13	0,11	-6,52	49,56
7	13,91	26,21	-0,64	1,34
8	0,44	69,72	0,20	0,10
9	1,93	47,05	1,80	1,62
10	4,83	15,68	-1,74	5,10
11	6,42	5,61	0,90	0,14
12	1,16	58,21	0,54	0,00
13	11,39	5,85	0,94	0,17
14	117,85	11881,00	0,19	0,10
15	13,70	24,10	0,16	0,12
16	10,19	1,96	1,06	0,29
17	9,89	1,21	-0,38	0,81
18	19,57	116,20	0,06	0,21
19	4,95	14,74	1,28	0,57
20	0,92	61,93	-0,19	0,50
21	4,00	22,94	0,76	0,05
22	-0,97	95,25	0,65	0,01
23	0,48	69,05	4,48	15,68
24	2,72	36,84	1,02	0,25
25	0,42	70,05	1,86	1,79
26	0,75	64,64	5,93	29,26
27	0,59	67,24	-1,91	5,90
28	5,36	11,76	3,14	6,86
29	0,59	67,24	1,51	0,98
30	3,93	23,61	0,72	0,04
31	1,47	53,58	0,69	0,02
32	1,15	58,36	0,14	0,14
33	5,85	8,64	0,44	0,00
34	2,19	43,56	-0,52	1,08
35	33,15	593,40	1,19	0,44
36	20,15	129,04	-0,09	0,37
37	2,43	40,44	0,29	0,05
Übertrag:	324,74	14051,30	19,25	126,21
			=====	=====

	x_n	$(x_n - M_1)^2$	x_n	$(x_n - M_2)^2$
Übertrag:	324,74	14051,30	19,25	126,21
			=====	=====
38	10,30	2,28		
39	-2,29	122,76		
40	-0,82	92,35		
41	5,36	11,76		
42	27,04	333,06		
43	13,72	24,30		
44	7,89	0,81		
45	12,45	13,39		
46	14,97	38,19		
47	13,95	26,62		
48	7,38	1,98		
49	5,01	14,28		
50	1,72	49,98		
	<u>439,58</u>	<u>14784,06</u>		
	=====	=====		
$M_1 = 8,79$				

$M_2 = 0,52$
 $\sigma_2^2 = 3,50$
 $\sigma_1^2 = 301,71$
 $M_1 - M_2 = 8,27$

$$\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}$$

$$\sqrt{\frac{301,71}{50} + \frac{3,50}{37}}$$

$$8,27 \quad \quad 7,41$$

Nachstehendes Diagramm stellt alle relativen Differenzen x der planimetrischen Auswertung nach der Methode der gleitenden Werte nach Koller dar.

Die beiden Versuchsgruppen mit Myasthenikerserum und Normalserum sind jeweils zu einer Kurve zusammengefaßt. Eine Verteilungskurve von Meßwerten nach der Methode der gleitenden Werte entsteht folgendermaßen:

Man trägt auf der Abszisse des Diagramms jeden einzelnen Meßwert als Punkt auf. Ein Abstand h gleitet nun um eine günstig gewählte Breite b stückweise von einem Ende der Abszisse zum anderen. Die in jedem einzelnen Intervall h befindliche Punktzahl z (Anzahl der in den betreffenden Bereich fallenden Einzelwerte) trägt man auf der Ordinate ein. Diese steht auf dem Mittelpunkt dieses Intervalls h .

Um die beiden erhaltenen Kurven miteinander vergleichen zu können, werden sie in ein und demselben Diagramm aufgetragen. Da die beiden Versuchsreihen aber verschiedene Versuchszahlen haben, müssen die Kurven

erst einander angeglichen werden: Die größte Ordinate der Hauptkurve a_1 wird jeweils durch die größte Ordinate der einen Nebenkurve a_2 dividiert. Man erhält also den Faktor $\frac{a_1}{a_2}$, mit dem die einzelnen dazugehörigen, auf der Abszisse aufgetragenen Punktzahlen multipliziert werden. Auf diese Weise erhält man die entsprechende Ordinate. Der Abstand h bleibt gleich.

Legende zu Diagramm 1:

Aus dem Diagramm ist zu ersehen, daß die beiden Kurven stark voneinander abweichen. Im Bereich der geringen Wirkungsgrößen (bei leichter Abschwächung des Azetylcholineffektes) fallen die Gipfelpunkte der Myasthenikerserum-Kurve und der Normalserum-Kurve fast zusammen. Im Bereich der stärkeren Wirkungsgrößen jedoch ist die Abweichung beider Kurven sehr deutlich.

In den beiden dargestellten Kurven sind die Wirkungen (x-Werte) sämtlicher Myasthenikerserum-Versuche und Normalserum-Versuche enthalten. Dabei wurde die vom Zeitpunkt der Blutentnahme bis zu Versuchsbeginn verstrichene Zeit nicht berücksichtigt. Dies geht zuungunsten der untersuchten spezifischen Myasthenikerserumwirkung, die noch eindeutiger imponieren würde, wenn nur mit ganz frischem, im Arbeitsversuch gewonnenen Myasthenikerserum gearbeitet worden wäre.

UNTERSUCHUNG VON VERÄNDERUNGEN DES MYASTHENIKERSERUMS IN VITRO

Die Sera wurden vor der Testung bis zu 6 Stunden bei einer Temperatur von 0 Grad C aufbewahrt. In folgender Tabelle werden die x-Werte von jeweils gleich lange nach der Blutentnahme verwerteten Sera zusammengestellt. Anhand der Mittelwerte wird die Abnahme des planimetrisch gewonnenen x-Wertes (Myasthenikerserum-Effekt) demonstriert.

Tabelle 3

MS = Myasthenikerserum

Von der Gewinnung des Blutes bis zur Verwertung des Serums verstrichene Zeit in Stunden.

M = Mittelwerte

MS 0, 0-0, 5	MS 0, 5-1, 0	MS 1-2	MS 2-3	MS 3-4	MS 4-5	MS 5-6
14, 97	----	0, 81	1, 08	0, 78	0, 20	0, 76
9, 63	----	0, 16	11, 39	1, 60	-1, 91	0, 35
9, 13	6, 42	1, 72	9, 89	1, 16	0, 53	0, 92
13, 91	----	0, 44	0, 92	-0, 97	3, 90	1, 50
117, 85	19, 57	4, 83	4, 00	0, 48	-0, 38	0, 19
13, 70	0, 75	4, 95	0, 42	2, 19	-----	0, 01
10, 19	20, 15	0, 92	0, 59	5, 36	-----	-----
33, 15	27, 04	0, 59	3, 93	5, 01	-----	-----
2, 72	0, 28	1, 47	5, 85	-----	-----	-----
-----	-0, 38	1, 15	2, 43	-----	-----	-----
-----	-0, 32	10, 30	-0, 82	-----	-----	-----
-----	-----	2, 29	7, 87	-----	-----	-----
-----	-----	13, 72	7, 38	-----	-----	-----
-----	-----	12, 45	-----	-----	-----	-----
-----	-----	13, 95	-----	-----	-----	-----
M = 25, 02	11, 06	4, 38	4, 00	1, 95	0, 47	0, 32

Die Wirkung des Myasthenikerserums nimmt umsomehr ab, je älter es wird. Sie sinkt innerhalb der ersten Stunde um ca. 56 %, innerhalb der 2. Stunde um ca. 60 %, innerhalb der dritten Stunde um ca. 9 %, innerhalb der vierten Stunde um ca. 51 %, innerhalb der fünften Stunden um ca. 76 %, innerhalb der sechsten Stunde um ca. 32 % des Mittelwertes, der jeweils eine Stunde vorher gefunden wurde. Nach sechs Stunden ist die Wirksamkeit auf 1,28 % der Anfangswirkung abgefallen.

Das folgende Diagramm zeigt den steilen Abfall der Myasthenikerserumwirksamkeit in einer etwa logarithmisch verlaufenden Kurve deutlich. Auf der

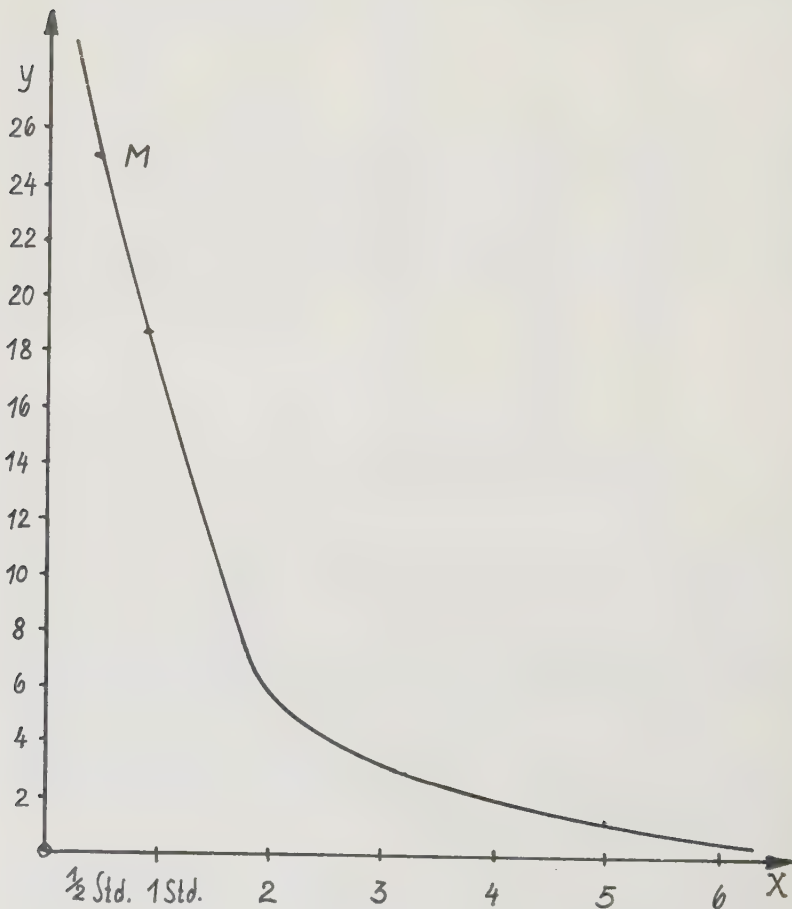
Abszisse ist die Zeit auf der Ordinate der Mittelwert der Wirkungsgrößen (x-Werte), die in den betreffenden Zeitabschnitt fallen, eingetragen. Die stärkste Wirkungsabnahme ist innerhalb der ersten beiden Stunden zu erkennen. Sie beträgt 82 %. Die gestrichelte Linie soll den wahrscheinlichen Verlauf der Kurve innerhalb der ersten halben Stunde andeuten.

Diagramm 2

X = Zeit. 2 cm = 1 Stunde.

Y = Mittelwert der Wirkungsgrößen.

M = Wirkungskurve von Myastheniker-
serum im Laufe von 6 Stunden.



UNTERSUCHUNGEN DES VERDÜNNTEN MYASTHENIKERSERUMS

Die Versuche mit verdünntem Myasthenikerserum wurden durchgeführt, um zu sehen, bis zu welchem Verdünnungsgrad eine Myastheniewirkung noch nachweisbar ist.

Tabelle 4

Datum	Versuch Nr.	Alter des Serums in Minuten	Tempera- tur des Serums	x Wert	Konzen- tration	Bemerk- ungen
13.1.56	1	195	0 Grad C.	1,93	unver- dünnt	nach Arbeit u. Stauung
13.1.56	2	210	0 Grad C.	1,60	1:2	0,6 % NaCl
13.1.56	3	225	0 Grad C.	2,91	1:8	0,6 % NaCl
13.1.56	4	230	0 Grad C.	1,57	1:32	0,6 % NaCl
13.1.56	5	240	0 Grad C.	0,52	1:128	0,6 % NaCl
13.1.56	6	250	0 Grad C.	-0,50	1:512	0,6 % NaCl
13.1.56	7	260	0 Grad C.	0,22	1:64	0,6 % NaCl

Abgesehen von dem uns nicht zu erklärenden Ergebnis in Versuch drei nimmt die Wirksamkeit des Myasthenikerserums mit stärker werdender Verdünnung ab.

Bei diesen Versuchen liegt eine unvermeidliche Fehlerquelle darin, daß das Serum im Laufe der Untersuchung an Wirksamkeit verliert. Die Wirksamkeit des Serums bei der hohen Verdünnung auf 1:128 ist auffällig. Das auf 1:64 verdünnte Myasthenikerserum in Versuch 7 wurde injiziert, um festzustellen, ob zu diesem Zeitpunkt überhaupt noch eine Wirksamkeit vorhanden war, oder ob die Wirkung des Serums bereits auf Grund der Serumveränderung in vitro aufgehoben war. Daß die Myasthenikerserum-Wirkung

der Verdünnung auf 1:64 kleiner ist als jene der größeren Verdünnungen 1:128 vor ca. 20 Minuten, ist durch den Zeitfaktor zu erklären.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKSAMKEIT DER MILCHSÄURE

Um die Wirkung der Milchsäure als eines wohldefinierten bei Muskelarbeit auftretenden Faktors am "Cava-Frosch" zu prüfen, wurden folgende Versuche durchgeführt:

Eine 0,17 %ige frisch angesetzte Milchsäurelösung wird zu diesem Zweck an Stelle des Serums dem Frosch injiziert. Diese Milchsäurekonzentration entspricht dem maximalen Milchsäuregehalt des Blutes. Die Beeinflussung der Azetylcholinwirkung durch Milchsäure wird mit dem durch Myasthenikerserum hervorgerufenen Effekt auf das Testobjekt verglichen. Die Milchsäurelösung enthält 0,6 % NaCl. Die Injektionsmenge der Milchsäurelösung beträgt analog der des Serums 0,2 ccm.

Zusammenstellung einer Versuchsgruppe (an ein- und demselben Frosch vorgenommen):

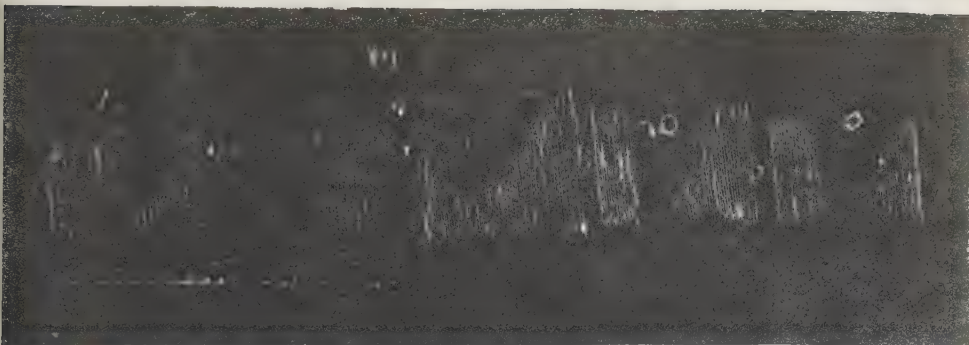
Datum	Versuch Nr.	Alter des Serums bzw. der Injektions- lösung	x-Wert	Bemerkung
23. 3. 56	1	20 Minuten	2,72	Myasthenikerserum. 3 Minuten Stauung ohne Arbeit.
23. 3. 56	3	35 Minuten	0,09	Milchsäure.

Minimale Wirkung der Milchsäure auf den Azetylcholineffekt, obwohl am gleichen Tier eine Myasthenikerserum-Wirkung vorhanden war.

Die in der obigen Tabelle angeführten Versuche sind in den folgenden beiden Abbildungen wiedergegeben:

Abbildung 9

Versuch Nr. 9 vom 23. III. 1956



MS: Myasthenikerserum V.

Alter des Myasthenikerserums: 2 Stunden.

Temperatur des Myasthenikerserums: 0 Grad C.

Injizierte Dosis: 0,2 ccm.

Azetylcholinkonzentration: 10^{-7} .

Temperatur des Azetylcholins: 18 Grad C.

Injizierte Azetylcholindosis: 0,05 ccm.

Zeitschreibung: 10 Sekunden.

Legende zu Abbildung 9:

Vor der Injektion des Myastheniker-Serums läßt sich die Wirkung des Azetylcholins reproduzieren. Die Azetylcholininjektion bewirkt eine Amplitudenverkürzung um ca. 90 % der Ausgangshöhe. Nach der Injektion des Myasthenikerserums steigt die Ausgangshöhe um ca. 25 % an. Die nun folgende Azetylcholininjektion von derselben Konzentration wie vorher, bewirkt ein Absinken der Amplitude um nur 60 %. 8 Minuten nach der Seruminjektion hat das Azetylcholin an Wirksamkeit wieder so zugenommen, daß es eine Amplitudenverkürzung um ca. 80 % hervorruft. Diese Wirkung läßt sich nach 3 Minuten reproduzieren.

Abbildung 10

Versuch Nr. 10 vom 23. III. 1956

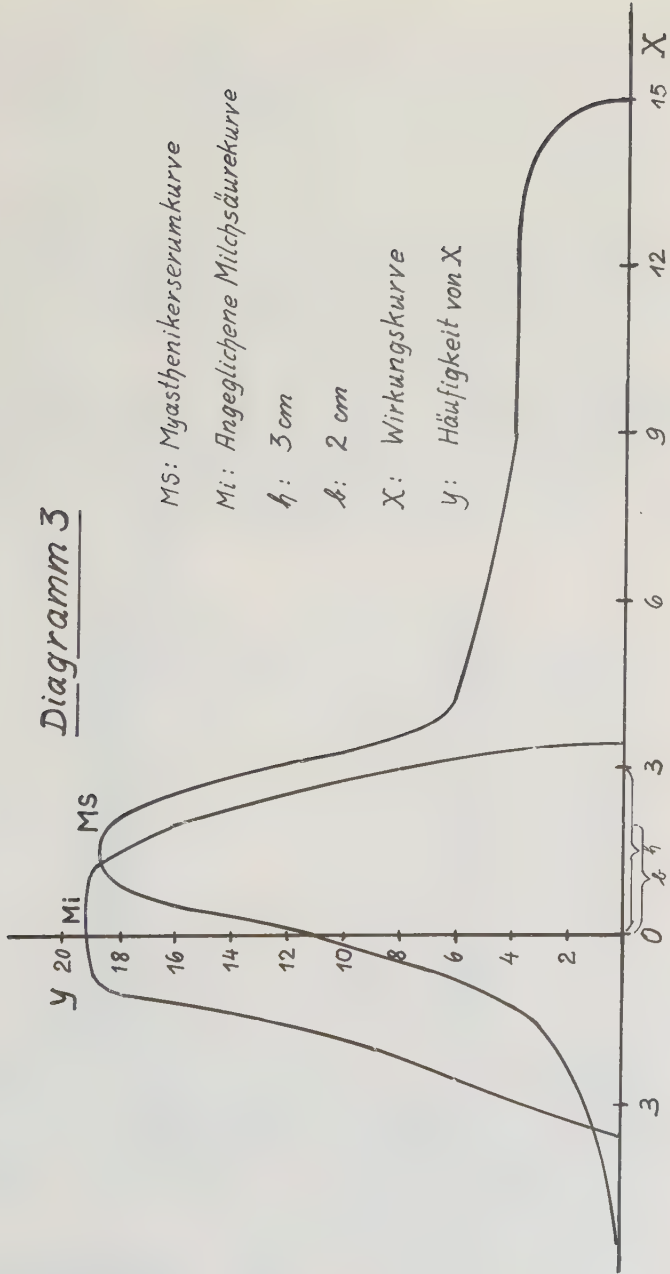


Legende zu Abbildung 10:

Vor der Milchsäureinjektion bewirkt das Azetylcholin einen ca. 10 Sekunden langen Herzstillstand. Nach der Milchsäuregabe wird eine Abschwächung der Azetylcholinwirkung nicht deutlich.

Folgendes Diagramm gibt nach der oben beschriebenen Methode der "gleitenden Werte" nach Koller den Verlauf zweier Kurven wieder. Die eine bringt die Wirksamkeit des Myasthenikerserums, die andere die der Milchsäure zur Darstellung.

Diagramm 3



Die folgende Tabelle stellt die rechnerisch ermittelte Signifikanz der beiden voneinander abweichenden Versuchsreihen mit Myasthenikerserum und Milchsäure dar. Die x-Werte und die mittlere Streuung der Myasthenikerserum-Reihe wurden bereits in Tabelle 2 zusammengestellt. Diese Ergebnisse sind für die vorstehende Tabelle übernommen worden.

Tabelle 6

Milchsäureversuche:

x_1 = Wirkungsfaktor der Milchsäure.

M_1 = Mittelwert der Ergebnisse der Milchsäureversuche.

(σ_1^2) = mittlere Streuung der Milchsäurewerte.

n_1 = Anzahl der Milchsäureversuche.

Myasthenikerversuche:

M_2 = Mittelwerte der Ergebnisse der Myasthenikerserumversuche.

n_2 = Anzahl der Myasthenikerserumversuche.

(σ_2^2) = mittlere Streuung der Myasthenikerserumwerte.

x_1	$(x_1 - M_1)^2$
- 0,92	0,8836
- 0,57	0,3481
- 0,92	0,8836
0,20	0,3240
0,02	0,0000
0,69	0,7489
- 1,04	1,1236
- 0,13	0,2250
0,25	0,5290
0,76	0,5476
0,65	0,3969
- 0,28	0,3000
0,57	0,3025
0,32	0,1156
0,09	0,0490
1,30	1,6384
Mittelwert M_1 : 0,02	<u>8,7178</u>
	$n_1 - 1$

$$= 0,5811 = (\sigma_1^2)^2$$

$$M_1 = 0,02 \quad n_1 = 16 \quad (\sigma_1^2)^2 = 0,58$$

$$M_2 = 8,79 \quad n_2 = 50 \quad (\sigma_2^2)^2 = 301,71$$

$$M_2 - M_1 > 3 \sqrt{\frac{(\sigma_2^2)^2}{n_2} + \frac{(\sigma_1^2)^2}{n_1}}$$

$$8,79 - 0,02 > 3 \sqrt{\frac{301,71}{50} + \frac{0,58}{16}} \quad \underline{\underline{8,77 > 7,38}}$$

ENTAKTIVIERUNGSVERSUCHE AM MYASTHENIKERSERUM

Ausgehend von der Tatsache, daß fermentative und chemische Prozesse bei steigender Temperatur rascher abzulaufen pflegen und daß sich dadurch die Eigenschaften des Serums ändern, wird das Myasthenikerserum verschiedenen hohen Temperaturen ausgesetzt. Sodann wird mit Hilfe der Froschtestmethode untersucht, ob sich die den Azetylcholineffekt abschwächende Myasthenikerserum-Wirkung durch Erwärmen verändert und unter welchen Cautelen dies geschieht.

Das frisch gewonnene Myasthenikerserum wird in einem Wasserbad 10 Minuten lang auf 56 Grad C erhitzt, dann auf Zimmertemperatur abgekühlt und injiziert. Jedem Versuch mit erhitztem Myasthenikerserum geht ein Versuch mit demselben unbehandelten Myasthenikerserum voraus. Die Wirksamkeit des Myasthenikerserums vor und nach dem Erhitzen wird verglichen.

Tabelle Nr. 7

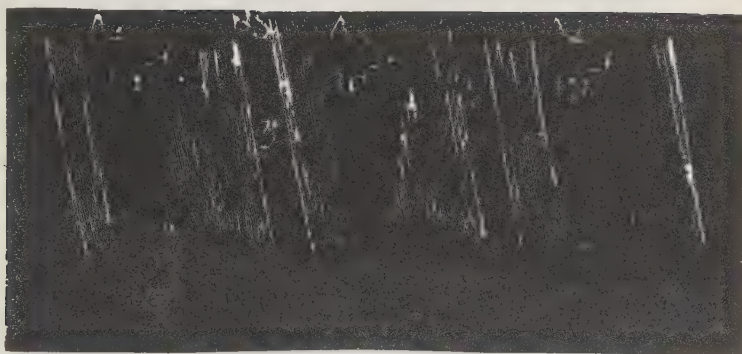
Datum	Versuch Nr.	Serum	Alter des Serums	Temperatur	x Wert	Art der Be- handlung
22. 3.	2	MS	60 Min.	-5 Grad C.	6, 43	Ohne Arbeit u. Stauung entnommen.
22. 3.	3	MS	90 Min.	56 Grad C.	0, 10	10 Min. auf 56 Grad C erhitzt.
22. 3.	7	NS	195 Min.	-5 Grad C.	-0, 29	Wie MS gewonnen.
MS = Myasthenikerserum				NS = Normalserum		

Die Wirksamkeit des Myasthenikerserums beträgt nach 10 Minuten dauernder Erhitzung auf 56 Grad C 1, 5 % der ursprünglichen Größe. Die Temperatur von -5 Grad C wird durch eine Alkohol-Äther- Salzmischung erhalten. Unbehandeltes Normalserum zeigt in diesem Falle sogar negative Wirkung, d. h. der Azetylcholineffekt wird eher verstärkt.

Die in den oben angeführten Versuchen wiedergegebenen Werte sind in den Abbildungen 11 und 12 dargestellt.

Abbildung 12

Versuch Nr. 12 vom 22. 3. 1956



NS : Normalserum

NS-Dosis: 0, 2 ccm

Azetylcholkonzentration: 10^{-7} .

Azetylcholindosis: 0, 05 ccm.

Zeitschreibung: 10 Sek.

Legende zu Abbildung 12:

Vor der Injektion des Normal-Serums bewirkt das Azetylcholin einen ca. 20 Sekunden langen Herzstillstand. Nach der Injektion des Normalserums ist außer der Verkürzung des Herzstillstandes auf 10 Sekunden keine Abschwächung der Azetylcholinwirkung zu beobachten.

Die folgenden Tabellen geben weitere Versuche mit "Hitzeinaktivierung des Myasthenikerserums" wieder:

Tabelle 8

Datum	Versuch Nr.	Serum	Alter des Serums	Tempe- ratur	X- Wert	Bemer- kung
7. 1. 56	1	MS	60 Min	0 °C	27, 04	Mit Arbeit und Stauung gewonnen.
7. 1. 56	2	MS	70 Min	65 ⁰ C	18, 47	2 Min. lang auf 65 ⁰ C erh.
7. 1. 56	3	MS	120 Min	0 ⁰ C	13, 72	unbeh. My- asthenikers.
7. 1. 56	5	MS	180 Min	0 ⁰ C	7, 89	unbeh. My- asthenikers.
7. 1. 56	6	MS	190 Min	56 ⁰ C	3, 22	10 Min. lang erhitzt.

MS = Myasthenikerserum

Aus obiger Tabelle ist eine fortschreitende Abnahme der Myasthenikerserumwirkung durch Erwärmen zu erkennen. Die Serumwirkung sinkt nach nur 2 Minuten lang dauernder Erhitzung auf 68 %. Die 10 Minuten lange Erhitzung auf 56° vermindert die Wirkung auf 46 %. Außer dieser Wirkungsabnahme durch Erhitzen sieht man, daß auch das unerhitzte Myasthenikerserum bei 0 Grad C an Wirksamkeit einbüßt. Setzt man die Wirkung nach der ersten Stunde gleich 100 %, so beträgt diese nach der zweiten Stunde 54 % und nach der dritten Stunde ca. 30 %.

Tabelle 9

Datum	Versuch Nr.	Serum	Alter des Serums	Tempe- ratur	X- Wert	Bemerkung
16. 3. 56	1	MS	20 Min.	- 5° C	10, 19	Nach Arbeit und Stauung gewonnen.
16. 3. 56	3	MS	180 Min.	- 5° C	9, 89	Nach Arbeit und Stauung gewonnen.
16. 3. 56	4	MS	190 Min.	60° C	1, 75	10 Min. Lang erhitzt.

MS = Myasthenikerserum

Das unbehandelte Myasthenikerserum verliert in diesem Falle durch Alterung innerhalb von 180 Minuten bei -5 Grad C innerhalb 10 Minuten 82 % seiner ursprünglichen Wirkung.

Tabelle 10

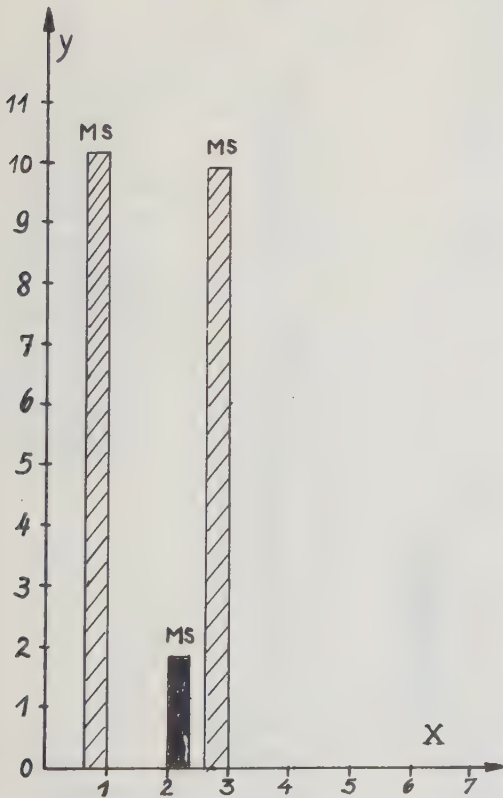
Datum	Versuch Nr.	Serum	Alter des Serums	Tempe- ratur	X- Wert	Bemerkung
10. 1. 56	1	MS	90 Min	0° C	12, 45	Nach Arbeit und Stauung gewonnen.
10. 1. 56	2	MS	120 Min	56° C	6, 01	10 Min. lang erhitzt
10. 1. 56	3	MS	480 Min	0° C	0, 76	Unbehandeltes altes Myasthenikerserum

MS = Myasthenikerserum

Nach 10 Minuten langer Erhitzung des Myasthenikerserums auf 56 Grad C verliert das Serum 50 % seiner Wirkung. Bei 0 Grad C aufbewahrtes unbehandeltes Myasthenikerserum hat nach 4 Stunden nur noch ca. 1 % seiner ursprünglichen Wirkung.

Diagramm Nr. 4 zu Tabelle Nr. 9 (Versuche vom 16. 3. 56)

DARSTELLUNG DER HITZEENTAKTIVIERUNG DES MYASTHENIKERSERUMS UND ABNAHME DES MYASTHENIEFAKTORS DURCH VERÄNDERUNG DES SERUMS IN VITRO BEI -5°C

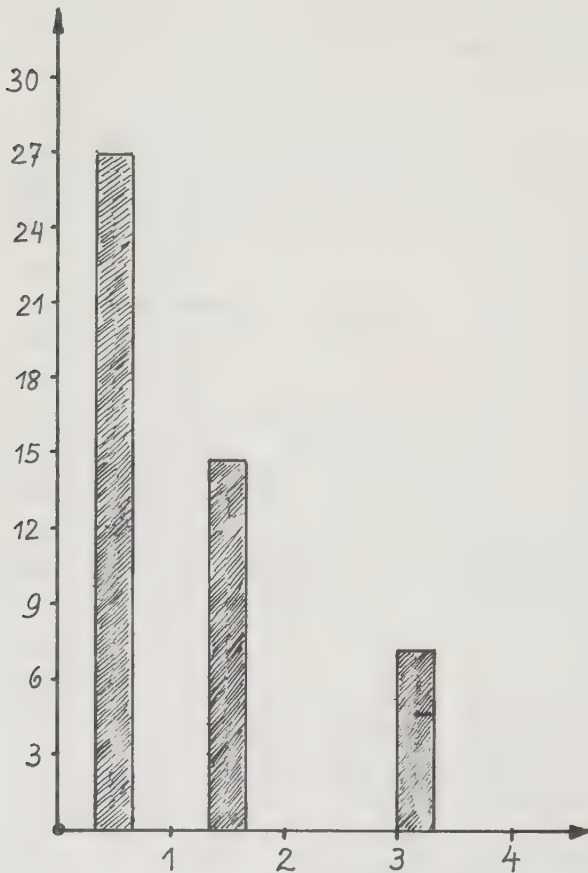


Auf der Abszisse ist die Zeit von der Blutentnahme bis zur Serumverwertung in Stunden, auf der Ordinate die Wirkungsgröße x des Myasthenikerserums aufgetragen. Das auf -5°C gehaltene unbehandelte Serum ist im Diagramm schraffiert, das 10 Min. auf 60°C erhitze schwarz dargestellt.

Es ist offensichtlich, daß die "Myastheniewirkung" in der Hitze unvergleichlich viel schneller verloren geht als in der Kälte.

DARSTELLUNG DER ABNAHME DES MYASTHENIEFAKTORS
IM SERUM DURCH VERÄNDERUNG DES SERUMS IN
VITRO BEI GLEICHBLEIBENDER TEMPERATUR VON 0°C

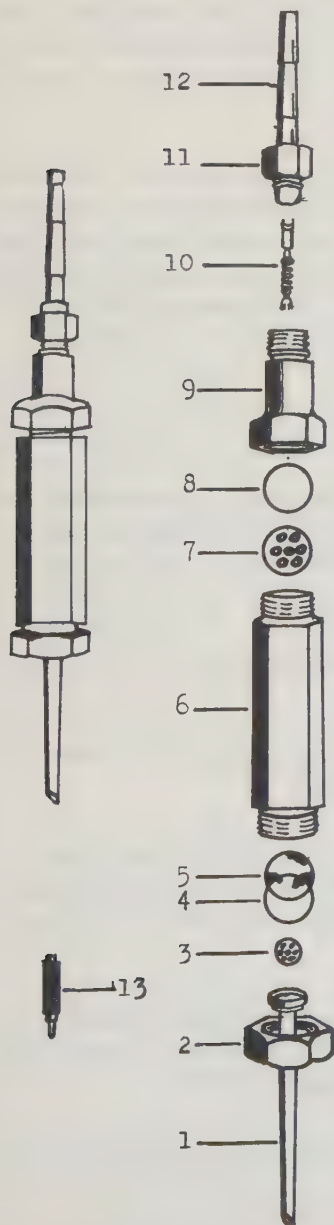
Diagramm Nr. 5 zu Tabelle Nr. 8 (Versuche vom 16.3.1956)



Auf der Abszisse ist die von der Blutentnahme bis zu Versuchsbeginn verstrichene Zeit in Stunden eingetragen. Auf der Ordinate ist die Wirkungsgröße x (Myastheniewirkung) verzeichnet.

Vergleicht man das Diagramm Nr. 5 mit dem Diagramm Nr. 4, so stellt man fest, daß die Myastheniewirkung bei 0°C infolge Serumveränderung in vitro bei weitem schneller abnimmt als bei -5°C.

FILTRATION DES MYASTHENIKERSERUMS MIT DEM SEITZ-MIKRODRUCKFILTER NACH ESSER



Aufbau des Filters.

Das Filtermedium wird von einer 1 ccm großen Lochplatte (3) im Filterunterteil mit Auslauftrichter (1) getragen. Eine kräftige Überwurfmutter (2) preßt das Unterteil an den Filtermantel (6). Die Abdichtung der Teile gegeneinander besorgt eine elastische Seitz- Filterschicht (4). Membranfilter (5) werden mit entsprechenden Seitz- Filterschichten als Stützsichten unterlegt.

Im oberen Teil des Filtermantels ist ein Rand eingedreht, der die große Lochplatte (7) aufnimmt. Diese bildet die Unterstützung für die Filterschicht (8), die zur Reinigung des eingeführten Druckgases und gleichzeitig zur Abdichtung des Filteroberteils (9) dient.

In das Filteroberteil läßt sich ein Autoventil (10) einschrauben. Hierzu dient der Spezialschlüssel (13). Dieses Ventil sorgt dafür, daß auch nach dem Abschrauben der Druckleitung der hohe Druck im Filterinnern gehalten wird. Ein Schlauch- Verbindungsstück (12) wird mit einer Überwurfmutter (11) mit dem Filter ohne besonderes Dichtungsmaterial druckdicht verbunden.

BESCHREIBUNG DES FILTERS

Der Seitz-Mikrodruckfilter ist ein Hochdruckfilter mit einem Fassungsraum von 12 ml (Füllmenge 10 ml) und einer wirksamen Filterfläche von 1 cm^2 . Der maximale Arbeitsdruck beträgt 15 atü. Alle Teile des Filters bestehen aus stark versilbertem Messing.

Das Gerät dient zur Filtration kleiner Flüssigkeitsmengen mit Seitz-Filter-schichten bzw. Membranfiltern. Es wird auch zur Proteinabscheidung aus dem Myastheniker Serum verwendet. Die Anwendung des Filtergerätes wurde von H. Esser und F. Heinzler in ihrer Arbeit "Eine Methode zur Gewinnung der Proteine aus Liquor cerebrospinalis und anderen schwach eiweißhaltigen Lösungen durch Filtration mit Überdruck für die Elektrophorese in Filterpapier" beschrieben.

ARBEITSWEISE DES FILTERS

Für die Proteingewinnung nach der von Esser beschriebenen Methode wird die eiweißdichte Membran-Filter-scheibe auf eine Stützschiicht aufgelegt, die unter der Bezeichnung "Seitz-Stütz- und Luftfilterschichten Gr. 2, 3 verwendet wird.

Die gleichen Schichten werden auch als Dichtungsmaterial bzw. zur Reinigung des Gasstromes in das obere Filterteil eingelegt.

Zum Gerät gehören eiweißdichte Membranfilter in entsprechender Größe, sogenannte Ultracellafilter für Proteinanalyse nach Esser.

Bei Eiweißanalysen wird die Lochplatte mit der Höhlung nach oben in das Unterteil eingelegt. Während der Filtration schmiegt sich die Membranfilter-scheibe in die vorhandene Delle, so daß das Eiweiß in der Mitte der Filter-scheibe zur Abscheidung kommt.

Vor dem Zusammenbau des Filters werden die Filterschichten mit einigen Tropfen destillierten Wassers durchfeuchtet, da mit trockenen Filterschichten bei hohem Druck keine einwandfreie Abdichtung zu erzielen ist.

Die für die Filtration bei hohem Druck notwendige starke Anpressung erreicht

man leicht durch Benutzung der mit zum Filter gehörigen Schraubenschlüssel.

Vor dem Aufsetzen des Oberteiles wird die zu filtrierende Flüssigkeit eingefüllt. Damit kein Verlust des zu analysierenden Materials durch Aufsaugen in die Luftfilterschicht eintritt, muß der Filter in gefülltem Zustand immer senkrecht gehalten werden.

DIE FILTRATION

Das gefüllte Gerät wird mit einem Druckschlauch an das Reduzierventil einer Druckflasche (Stickstoff) angeschlossen. Die Schläuche müssen dazu sorgfältig mit Schellen oder dergleichen an den Schlauch-Verbindungsstücken befestigt werden.

Der gewünschte Filtrationsdruck von 10-12 atü. wird bei angeschlossenem Filter am Reduzierventil eingestellt. Wenn das Autoventil dicht eingepaßt ist, wozu manchmal vor Inbetriebnahme ein nochmaliges Anziehen mit einem Spezialschlüssel notwendig ist, so genügt zur Füllung ein Anschluß des Gerätes an die Druckleitung von einigen Sekunden. Danach kann das Gerät von dem Anschlußstück, das zweckmäßigerweise dauernd mit der Druckgasanlage verbunden bleibt, getrennt werden. Bei richtig eingelegten und angezogenen Dichtungen bleibt der Druck im Inneren des Filters stundenlang erhalten.

Tabelle 11

Datum	Versuch Nr.	Serum	Alter des Serums	Temperatur	X Wert	Bemer- kung
7.1.56	3	MS	120 Min.	0°C	13,72	Unbehandel- tes Serum.
7.1.56	4	MS	150 Min.	0°C	1,88	Ultrafiltrat
7.1.56	5	MS	180 Min.	0°C	7,89	Unbehandel- tes Serum.
7.1.56	7	MS	225 Min.	0°C	0,87	Ultrafiltrat.
7.1.56	8	MS	240 Min.	0°C	2,87	Filter- Rückstand.
12.1.56	1	MS	90 Min.	0°C	3,31	Ultrafiltrat.
12.1.56	7	MS	120 Min.	0°C	4,83	Unbehandel- tes Serum.
12.1.56	9	MS	180 Min.	0°C	5,85	Filter- Rückstand.
12.1.56	2	MS	90 Min.	0°C	2,65	Ultrafiltrat.
12.1.56	3	MS	105 Min.	0°C	12,85	Filter- Rückstand.
12.1.56	6	MS	240 Min.	0°C	1,86	Ultrafiltrat.

MS = Myasthenikerserum.

In der Tabelle 11 sind drei Versuchsgruppen zusammengestellt.

Die Wirkung des filtrierten Myasthenikerserums ist deutlich geringer als die des unbehandelten Serums.

Die Wirkung des Filter-Rückstandes ist größer als die des Ultrafiltrates.

In allen drei Versuchsgruppen ist diese gleichsinnige Wirkung zu beobachten. Wenn man diese Ergebnisse unter Berücksichtigung der von der Blutentnahme bis zur Verwertung der Sera verstrichenen Zeit betrachtet, so ergibt sich folgendes:

Das Serum des Filtrerrückstandes in der ersten und zweiten Versuchsgruppe wurde

90 Minuten, das Serum des Filtrerrückstandes der dritten Versuchsgruppe 15 Minuten früher gewonnen als entsprechendes filtrierte Serum.

Trotzdem ist die Wirkung des Filter-Rückstandes in der ersten Versuchsgruppe um ca. 32 %, in der zweiten um ca. 43 %, in der dritten Gruppe um ca. 79 % größer als die Wirkung des filtrierten Serums.

Die folgenden Originalkurven belegen deutlich die oben beschriebenen Ergebnisse mit Myasthenikerserum.

Legende zu Abbildung 13 (s. Seite 50):

Vor der Injektion des Myasthenikerserums bewirkt das Azetylcholin einen ca. 10 Sekunden langen Herzstillstand. 6 Minuten nach der Injektion des unbehandelten Myasthenikerserums bewirkt das Azetylcholin eine Amplitudenverkürzung um ca. 25 %. Nach weiteren 6 Minuten wird die Azetylcholinwirkung wieder stärker. Dies ist an einer Amplitudenverkürzung um ca. 80 % ersichtlich. 20 Minuten nach der Injektion des Myasthenikerserums erreicht die Azetylcholinwirkung ihre ursprüngliche Stärke nahezu wieder.

Legende zu Abbildung 14 (s. Seite 51):

Vor der Injektion des Ultrafiltrats bewirkt das Azetylcholin einen ca. 20 Sekunden dauernden Herzstillstand. Nach der Injektion des Ultrafiltrats bewirkt dieselbe Azetylcholin-Dosis eine Amplitudenverkürzung um ca. 60 %. Nach weiteren 3 Minuten ist die Ultrafiltrat-Wirkung so abgeschwächt, daß das Azetylcholin bereits eine Amplitudenverkürzung von ca. 15 Minuten hervorruft. 15 Minuten nach der Injektion des filtrierten Myasthenikerserums beträgt die Amplitudenverkürzung durch Azetylcholin ca. 90 %.

Legende zu Abbildung 15 (s. Seite 52)

Vor der Injektion des Filter-Rückstandes bewirkt das Azetylcholin eine Amplitudenverkürzung um ca. 90 %. Nach der Injektion des Filter-Rückstandes kommt es nur zu einer Amplitudenverkürzung von ca. 20 %. Nach 12 Minuten nimmt die Azetylcholinwirkung so zu, daß die Amplitudenverkürzung 50 % beträgt. 27 Minuten nach der Injektion des Filter-Rückstandes hat das Azetylcholin dieselbe Wirkung wie vor der Injektion.

Abbildung 13
Versuch Nr. 7 (angegeben in Tabelle 11 Seite 45 zweite Versuchsgruppe).



MS: unbehandeltes Myastheniker Serum
Azetylcholinkonzentration: $2 \cdot 10^{-8}$
Injizierte Azetylcholin-Dosis: 0,05 ccm.
Injizierte Myastheniker Serum-Dosis: 0,2 ccm

Abbildung 14
Versuch 1 vom 12. I. 56



FMS: filtriertes Myastheniker Serum.
Über Temperatur und Gewinnung des Serums gibt die Tabelle 11 (zweite Versuchsgruppe) Aufschluß.
Azetylchlinkonzentration: 10^{-8} . 2.
Injizierte Azetylcholin-Dosis: 0,05 ccm.
Injizierte Serum-Dosis: 0,02 ccm.

Abbildung 15

Versuch Nr. 9 vom 12. I. 56.

Die Tabelle 1, Seite 48, enthält Angaben über Temperatur und Gewinnung des Serums.



RMS: Der über dem Filter nach Filtration zurückgebliebene Myasthenikerserumrest.

Azetylcholinkonzentration: 2.10⁻⁸

Injizierte Azetylcholin-Dosis: 0,05 ccn.

Injizierte Serum-Dosis: 0,2 ccn

ZUSAMMENFASSUNG DER X-WERTE UND BERECHNUNG
DER MITTELWERTE DES ULTRAFILTRIERTEN
MYASTHENIKERSERUMS UND FILTER-RÜCKSTANDES

Tabelle 12

Datum	Versuch Nr.	Temperatur	x-Wert	Alter des Serums	Bemerkung
12. 1. 56	1	0°C	3,31	90 Min.	Ultrafiltriertes MS.
12. 1. 56	2	0°C	2,65	90 Min.	Ultrafiltriertes MS.
12. 1. 56	6	0°C	1,86	240 Min.	Ultrafiltriertes MS.
7. 1. 56	4	18°C	1,88	150 Min.	Ultrafiltriertes MS.
7. 1. 56	7	18°C	0,87	225 Min.	Ultrafiltriertes MS.
12. 1. 56	3	0°C	12,58	105 Min.	Filter-Rückstand
12. 1. 56	5	0°C	5,85	180 Min.	Filter-Rückstand
10. 1. 56	4	18°C	2,78	200 Min.	Filter-Rückstand
7. 1. 56	8	18°C	2,87	240 Min.	Filter-Rückstand

MS: Myasthenikerserum.

Der Mittelwert von x_1 (Ultrafiltrat) beträgt 2,11,
der Mittelwert von x_2 (Filter-Rückstand) 6,02.

Eine erhebliche Fehlerquelle liegt darin, daß ein Wirkungsverlust durch Serumveränderung in vitro entsteht.

Die Anzahl der durchgeführten Filtrationsversuche ist zu klein, um über ein Abweichen beider Ergebnisreihen mit Sicherheit etwas aussagen zu können.

ENTAKTIVIERUNGSVERSUCHE MIT CHEMISCH BEHANDELTEN MYASTHENIKERSERUM

Das Serum wird wie folgt behandelt:

- a) 0,2 ccm Myasthenikerserum werden mit 0,8 ccm absolutem Äthanol ent-eiweißt; das Eiweiß wird abzentrifugiert (2000 U/Min.), das Überstehende wird bei Zimmertemperatur im Vakuum auf 0,4 ccm eingedampft und mit 0,6 ccm froschphysiologischer Na-Cl-Lösung (0,6 %) versetzt.
- b) 0,2 ccm Myasthenikerserum werden mit 0,8 ccm absolutem Äthanol gekocht (30 Sekunden lang), der Niederschlag abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit im Vakuum bei Zimmertemperatur auf 0,4 ccm eingedampft und mit 0,6 ccm einer 0,6 %igen NaCl-Lösung versetzt.
- c) 0,4 ccm Myasthenikerserum und 0,08 ccm n HCl werden drei Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen, mit 0,08 ccm NaOH neutralisiert und sofort gespritzt.
- d) 0,4 ccm Myasthenikerserum werden mit 0,04 NaOH versetzt, drei Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, mit 0,04 HCl neutralisiert und sofort gespritzt.
- e) 0,4 ccm Myasthenikerserum wird mit einem Überschuß von Azeton gefällt und im Vakuum zu einem weißen Pulver eingetrocknet. Dieses Trockenpräparat wird am folgenden Tag in 0,6 %iger NaCl-Lösung aufgelöst und sofort injiziert.

Tabelle 13

Datum	Versuch Nr.	Serum	Alter des Serums	Tempera- tur	x- Wert	Bemerkung
13.1.56	1	MS	15 Min.	22 ^o C	13,91	Unbehandel- tes Serum
13.1.56	2	NS	20 Min.	22 ^o C	0,29	Unbehandel- tes
13.1.56	3	MS	50 Min.	22 ^o C	4,06	Mit Alkohol (a) behandelt.
13.1.56	9	MS	180 Min.	22 ^o C	1,24	Mit Säure (c) behandelt.
13.1.56	10	MS	195 Min.	0 ^o C	1,93	Unbehandel- tes Serum.
13.1.56	6	MS	120 Min.	0 ^o C	-0,36	Mit Äthanol gekocht (b).
12.1.56	2	MS	48 Stunden	22 ^o C	2,54	Azeton-Trok- kenpräparat.
12.1.56	7	MS	120 Min.	22 ^o C	4,83	Unbehandel- tes Serum.
12.1.56	10	MS	180 Min.	22 ^o C	2,64	Mit NaOH (d) behandelt.
12.1.56	11	MS	240 Min.	22 ^o C	0,78	Mit HCl (c) behandelt.

MS: Myasthenikerserum

NS: Normalserum

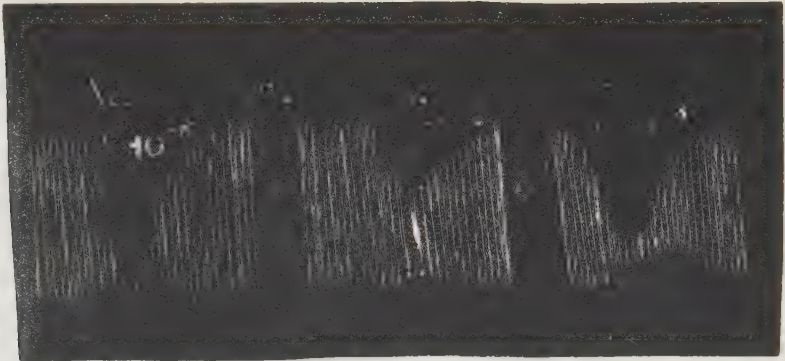
Die Tabelle 13 enthält Ergebnisse aus den Versuchen mit chemisch behandeltem Myasthenikerserum. Versuche mit unbehandeltem Serum wurden zur Kontrolle und Vergleichsmöglichkeit wiederholt zwischengeschaltet. Die Wirksamkeit ist beim unbehandelten, frischen Serum am größten. Doch nimmt sie, wie aus den x-Werten zu ersehen ist, schon ohne irgendwelchen Eingriff nach drei Stunden um ca. 86 % ab. Sowohl nach Behandlung mit Alkohol als auch mit Säure bleibt das Serum ebenso aktiv, wie ca. ebenso-
lang aufbewahrtes unbehandeltes Myasthenikerserum. Inaktiv wird es erst bei Enteiweißen mit kochendem Alkohol. Auffällig ist die erhaltene Wirk-
samkeit bei 48 Stunden altem Azetonpulver aus Myasthenikerserum. Das
Azetontrockenpulver war allerdings nicht mehr so wirksam wie frisches

Myasthenikerserum.

In folgenden Abbildungen werden einige in der Tabelle angeführten Versuche dargestellt.

Abbildung 16

Versuch Nr. 7 vom 12. I. 56



MS: Myasthenikerserum (unbehandelt).

Azetylcholkonzentration $2 \cdot 10^{-8}$.

Injizierte Azetylcholindosis: 0,05 ccm.

Injizierte Serumdosis: 0,2 ccm.

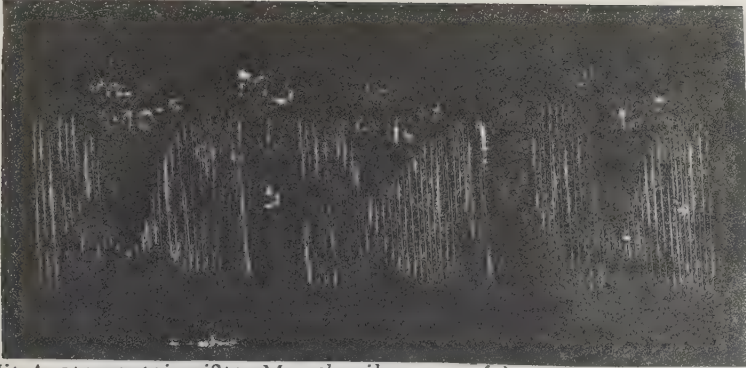
Temperatur und die von der Blutentnahme bis zur Verwertung des Serums verstrichene Zeit ist in Tabelle 13 auf Seite 55 angegeben.

Legende zu Abbildung 16:

Vor der Injektion des Myasthenikerserums bewirkt das Azetylcholin einen ca. 10 Sekunden langen Herzstillstand. Nach der Seruminjektion (unbehandeltes Myasthenikerserum) wird die Amplitude durch Azetylcholin um ca. 40 % verkürzt. Nach 6 Minuten nimmt die Azetylcholinwirkung deutlich zu und führt zu einer Amplitudenverkürzung um ca. 80 %.

Abbildung 17

Versuch Nr. 2 vom 12. I. 56



MS: Mit Azeton enteiweißtes Myasthenikerserum (e).

AzetylcholinKonzentration: $2 \cdot 10^{-8}$.

Injizierte Azetylcholin-Dosis: 0,05 ccm.

Injizierte Serum-Dosis: 0,2 ccm.

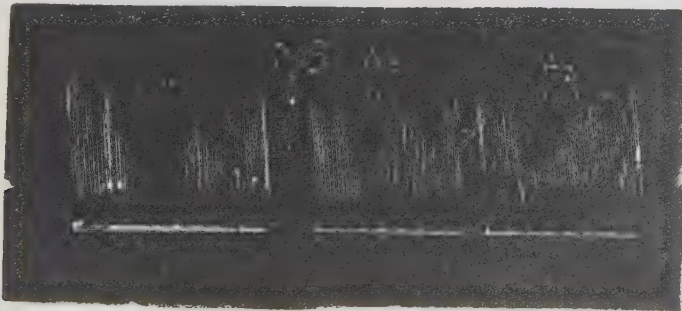
Nähere Angaben sind der Tabelle 13 auf Seite 50 zu entnehmen.

Legende zu Abbildung 17:

Vor der Myasthenikerseruminjektion bewirkt das Azetylcholin einen ca. 10 Sekunden langen Herzstillstand. Nach der Injektion des enteiweißten Myasthenikerserums wird die Azetylcholinwirkung so abgeschwächt, daß dadurch eine Amplitudenverkürzung um ca. 40% zustandekommt. Nach 5 Minuten nimmt die Azetylcholinwirkung zu und die Amplitude ist entsprechend um ca. 80 % verkürzt.

Abbildung 18

Versuch Nr. 5 vom 12. I. 56



Myasthenikerserum mit Äthanol gekocht (b). Der Versuch ist in Tabelle 13, Seite 55, angeführt. Die Behandlung des Serums ist auf Seite 54 näher be-

schrieben.

AzetylcholinKonzentration: 10^{-6} .

Injizierte Azetylcholin-Dosis: 0,05 ccm.

Injizierte Myasthenikerserum-Dosis: 0,2 ccm

Legende zu Abbildung 18:

Vor der Injektion des mit Äthanol gekochten Myasthenikerserums bewirkt das Azetylcholin einen ca. 10 Sekunden langen Herzstillstand. Nach Seruminjektion nach 3 Minuten ist keine Beeinflussung der Azetylcholinwirkung bemerkbar. Nach weiteren 3 Minuten zeigt sich dieselbe Wirkung wie vorher.

Abbildung 19
Versuch Nr. 10 vom 12. I. 56



MS: Myastheniker Serum mit NaOH behandelt (d). Der Versuch ist auf Seite 55 näher beschrieben und in Tabelle 13 angeführt.

Legende zu Abbildung 19:

Vor der Injektion des mit NaOH behandelten Myastheniker Serums (Dosis: 0,2 ccm) bewirkt das Azetylcholin (Konzentration: $2 \cdot 10^{-8}$, Dosis: 0,05 ccm) einen ca. 20 Sekunden langen Herzstillstand. Nach der Seruminjektion wird die Amplitude um ca. 40 % verkürzt. Nach 6 Minuten geringe Zunahme der Azetylcholinwirkung. Die Amplitudenverkürzung beträgt nun ca. 60 %, 18 Minuten nach der Seruminjektion ist eine Amplitudenverkürzung um ca. 80 % erreicht.

DISKUSSION

Unsere tierexperimentellen Untersuchungen sollen den Einfluß eines pathologischen, im Myasthenikerserum enthaltenen Faktors, auf den Azetylcholineffekt am Froschherzen sicher bestimmen. Sie reihen sich damit ein in frühere Untersuchungen von Struppler und Baumgarten mit dem Ziel, die pathophysiologischen Ursachen bei der Myasthenie aufzuklären.

Um einen Ansatz für das Verständnis der Ursachen der Myasthenie zu gewinnen, seien zunächst die physiologischen Vorgänge bei der neuromuskulären Übertragung skizziert, soweit bei ihnen das Azetylcholin eine Rolle spielt. Anschließend sollen die verschiedenen Hypothesen der Störung dieses Mechanismus bei der Myasthenie gestreift werden.

Bei der Erregung der Nerven, also dort, wo Aktionspotential auftritt, entsteht Azetylcholin. Dies ist auch an der Stelle der neuromuskulären Übertragung, an der motorischen Endplatte, der Fall, und zwar an der Sohlenplatte. Das Azetylcholin ist bei der neuromuskulären Übertragung unentbehrlich. Es ist ein Potentialstoff, das heißt, es wirkt nur dort, wo ein Azetylcholin-Konzentrationsgefälle herrscht. Dieses entsteht im Organismus durch fortwährende Bildung von Azetylcholin einerseits und durch Wiederabbau des Azetylcholins durch Cholinesterase andererseits.

Daraus ergeben sich bereits zwei Erklärungsmöglichkeiten der myasthenischen Störung. Sie werden beide, wie weiter unten dargelegt, von verschiedenen Autoren vertreten.

- 1.) Die mangelnde Bildung von Azetylcholin und
- 2.) die überschießende Zerstörung von Azetylcholin durch überhohe Cholinesterase-Aktivität.

Es gibt einen Modellfall, bei dem ein Giftstoff in den physiologischen Azetylcholin-Mechanismus an der motorischen Endplatte eingreift, nämlich die Curarevergiftung. Zwischen der Curarevergiftung und der Myasthenie gibt es zahlreiche Parallelen: Das elektromyographische Bild beider Zustände ist äußerst ähnlich. In beiden Fällen helfen das cholinesterase-hemmende Prostigmin und ähnlich wirkende Körper sowie KCl, das sich allerdings wegen

der Nebenwirkungen der erforderlichen hohen Dosen für die klinische Anwendung nicht eignet. Angesichts solcher Beobachtungen führte M. Walker 1934 das Physostigmin in die Therapie der Myasthenie ein. Schließlich war das physostigminähnliche Präparat Prostigmin noch besser geeignet.

Das Modell der Curare-Vergiftung gab jedoch vor allem einen wichtigen Hinweis für die Erforschung der Myasthenia gravis; Wilson vermutete, daß auch bei dieser Erkrankung ein im Organismus gebildeter "Giftstoff" im Spiele sei, der eine curareartige Wirkung ausübt. Man nimmt an, daß durch diesen Stoff die Empfindlichkeit der motorischen Endplatten gegenüber Azetylcholin, etwa durch "competitive Hemmung", herabgesetzt wird. Sehr zahlreiche Untersuchungen, so auch jene der vorliegenden Arbeit, sprechen für die Richtigkeit der Ansichten Wilsons. So fanden beispielsweise andere Autoren, daß sich myasthenische Symptome durch Übertragung des Serums von Kranken bei Gesunden hervorrufen lassen (Nils Tunestam). Ebenso kann die Myasthenie Schwangerer auf das Kind übergehen (Donald Frazer). Der Hemmstoff müßte in diesen Fällen die Plazenta passiert haben. Die Myasthenie hat jedoch bei den Neugeborenen dann keinen Bestand. - Nach Injektion von Myasthenikerserum wird bei Meerschweinchen die Fähigkeit zur Muskelarbeit geringer (I. Lesney). Wilson und Stoner fanden am Froschrectus nach Myasthenikerserum eine Minderung des Kontraktionsausmaßes. Auch im Harn von Myasthenikern soll ein derartiger übertragbarer Myastheniefaktor enthalten sein (G. J. Markeloff). - Für die Existenz eines humoralen, die neuromuskuläre Übertragung hemmenden Faktors spricht weiter der Drosselungsversuch von Grosse-Brockhoff und Welte: Läßt man aus einer gedrosselten Extremität, mit der Arbeit geleistet wurde, durch Lösung der Stauung das Blut in den Gesamtorganismus gelangen, so treten insbesondere an den Prädispositionsstellen (mimische Muskulatur) myasthenische Symptome auf. - Noch eindeutiger zeigte sich die Existenz eines Myastheniefaktors bei der Übertragung von Blut aus einer solchen gedrosselten Extremität eines Myasthenikers auf das Gastocnemiuspräparat des Hundes (A. Struppler); es ließ sich dort elektromyographisch ein myasthenischer Hemmeffekt nachweisen. Eine Zusammenstellung weiterer Versuche, einen Myastheniefaktor nachzuweisen, teils mit, teils ohne Erfolg, findet sich bei Löw.

Aus den bisherigen Untersuchungen anderer Autoren ist zu entnehmen, daß die Blockadestofftheorie Wilsons sehr viel Wahrscheinlichkeit besitzt. Auch mit unserer Versuchsanordnung, die von von Baumgarten angegeben (Diskussionsbemerkung Neurologenkongreß Würzburg 1954) und von Löw angewandt wurde, konnte die Existenz eines besonderen "Myastheniefaktors" im

Serum von Myasthenikern wahrscheinlich gemacht werden. Wie in der Methodik beschrieben, wurde der sogenannte "Cava-Frosch" benutzt.

Dieser Versuchsanordnung liegt das Gegenspiel zwischen einem für die Myasthenie charakteristischen humoralen Hemmungsfaktor der neuromuskulären Übertragung und dem bei diesem Vorgang entscheidend beteiligten Azetylcholin zugrunde. Dieser Antagonismus zwischen Myastheniefaktor und Azetylcholin am Froschherzen diente bei den Untersuchungen dieser Arbeit als Test zur quantitativen Erfassung des humoralen Myastheniefaktors im Serum. Dabei wurde einer nach ihrer Stärke bekannten, bestimmten Azetylcholinwirkung eine unbekannte, erst zu ermittelnde Stärke des Myastheniefaktors gegenübergestellt. - Es hat sich auch bei den hier beschriebenen Untersuchungen gezeigt, daß sich das Froschherzpräparat für den Nachweis des humoralen Myastheniefaktors aus folgenden Gründen besonders gut eignet: Es können damit sehr kleine Azetylcholinmengen nachgewiesen werden, seine Reaktion ist sehr gleichmäßig, rasche Reversibilität der Azetylcholinwirkung und die Möglichkeit, in kurzen Zeitabständen die Testung an demselben Tier zu wiederholen.

Merkwürdig ist, daß die von uns erneut nachgewiesene Abschwächung der Azetylcholinwirkung, die das Wesentliche an der myasthenischen Reaktion der motorischen Endplatte sein dürfte, auch am Froschherzmuskel auftritt. Dieser stellt bekanntlich ein ganz anderes Syncytium als der Skelettmuskel dar und enthält im Gegensatz zu diesem keine motorischen Endplatten. Wir finden für diese Tatsache keine Erklärung; sie schränkt jedoch die praktische Verwendbarkeit des Froschherzpräparates zur Testung des Myastheniefaktors unseres Erachtens nicht ein.

Nachdem somit die grundsätzliche Eignung dieses Präparates für die Erfassung des Myastheniefaktors erwiesen war, konnte die Versuchsanordnung außer zur Erweiterung des bisher vorliegenden Materials zum Studium der besonderen Eigenschaften des Myastheniefaktors verwertet werden.

Über die bisherigen Ergebnisse von Baumgarten und Löw hinaus kann auf Grund der eigenen Untersuchungen gesagt werden, daß eine Parallelität zwischen der Schwere des klinischen Krankheitsbildes und der Stärke der Myastheniewirkung im Froschtest besteht. Offenbar kreist im schweren myasthenischen Zustand mehr Hemmstoff im Blute als bei leichteren Formen der Myasthenie, was ja auch durchaus zu erwarten ist. Ferner konnte auch mit dieser Versuchsanordnung bestätigt

werden, daß nach dem Grosse-Brockhoffschen Arbeitsversuch die auf ein Tier übertragene Myastheniewirkung des Serums verstärkt ist.

Struppler hat von dem gleichen Ergebnis mit anderer Versuchsanordnung berichtet.

Während also die Existenz eines Blockadestoffes nach allen Untersuchungen der anderen und bei Löw zitierten Autoren sowie nach den eigenen Experimenten nicht mehr zu bezweifeln ist, galt es, die Eigenschaften dieses Faktors zu untersuchen. Wie auch schon Struppler und Löw andeuten, ist der Blockadestoff labil. Seine Wirksamkeit im gewonnenen Serum in situ blieb nie länger als fünf Stunden erhalten. Daran änderte auch die Herabsetzung der Temperatur unter 0°C nichts. Mit ansteigender Temperatur tritt der Wirkungsverlust schneller ein, so beispielsweise schon bei Zimmertemperatur. Bei Temperaturen von 56°C und darüber läßt sich der Myastheniefaktor rasch entaktivieren. Die letztere Beobachtung insbesondere läßt an einen Fermentcharakter des Myastheniefaktors denken.

Auch die Beobachtung, daß sogar noch bei einer Verdünnung des Serums auf 1:512 noch eine geringe Wirkung auftrat, spricht dafür. Hätte der Faktor Fermentcharakter, so müßte er durch Ausfällen des Serumeiweißes inaktivierbar sein. Wir haben mit Äthanol, Säure, Lauge und Aceton gefällt. Zwar kam es nach Äthanol und Säure selbst bei Zimmertemperatur zu einer gewissen Abschwächung der Serumwirkung. Sie war aber immer noch nachweisbar. Eine völlige Inaktivierung ist auf diese Weise also nicht zu erreichen. So sprechen also diese Beobachtungen gegen einen Fermentcharakter des Faktors. Analog ist auch die Beobachtung zu deuten, daß das Aceton-Trockenpulver von Myasthenikerserum noch nach 48 Stunden deutlich wirksam war. Demnach müßte der Wirkstoff zumindest teilweise mit dem ausgefallten Eiweiß mitgerissen werden. In gleicher Richtung weisen Versuche durch Ultrafiltration, eine Charakterisierung des Wirkstoffes anzustreben. Der Filtrerrückstand ist deutlich wirksamer als das Filtrat. Der Wirkstoff muß also grundsätzlich in noch wirksamer Form die Poren des Ultrafilters passieren können, ein Teil muß aber auch vom Filter zurückgehalten werden. Dies ist an der Anreicherung oberhalb des Filters zu erkennen. Die Anreicherung des Faktors im Filtrerrückstand ließe sich mit einer lockeren Bindung des Faktors an hochmolekulare Stoffe, wie bei der Acetonfällung, erklären. Die Tatsache, daß überhaupt Wirkstoff passiert, spricht gegen dessen Fermentnatur, da die Moleküle des Fermenteiweißes nicht passieren dürften.

Wenn also auch einiges für eine Fermentnatur des Myastheniefaktors sprechen könnte, wie beispielsweise seine Entaktivierbarkeit bei 56 Grad C und beim Stehenlassen im Serum, so ergeben sich mehrere stichhaltige Argumente gegen diese Annahme. Schließlich könnte auch ein Hemmstoff ohne Fermentnatur alle bisher vom Myastheniefaktor gezeigten Eigenschaften ohne weiteres besitzen.

Gegenüber der Hemmstofftheorie besitzen alle anderen Hypothesen über den Mechanismus der Myasthenie wesentlich weniger Wahrscheinlichkeit. Sie sind auch schon für sich größtenteils stichhaltig widerlegt. Die Annahme von Wolff und Torda, daß bei der Myasthenie eine Hemmung der Azetylcholinsynthese vorliege, ist durch die normalen Azetylcholingehalte myasthenischer Muskulatur widerlegt. Auch im Myasthenikerblut wurde ein normaler Azetylcholingehalt gefunden (Mc Eachern).

Derselbe Autor fand auch bei Myasthenikern einen normalen Cholinesterasegehalt im Blut und Serum, was gegen die Annahme von Störungen der Cholinesteraseaktivität als Ursache der Myasthenie spricht.

Auch die Hypothese, daß die Milchsäure als Ermüdungsstoff bei der Myasthenie eine Rolle spielen könnte, ließ sich widerlegen (G. v. Bergmann und Dresel). - Andere Untersucher konnten die Ergebnisse dieser Autoren, nach denen nämlich ein erhöhter Milchsäuregehalt im Venenblut von Myasthenikern vorhanden sein soll, nicht bestätigen und fanden, daß der intermediäre Stoffwechsel bei Myasthenie keine einheitlichen Störungen aufweist.

Modellversuche, die im Rahmen dieser Arbeit mit Milchsäure am Froschherzen angestellt wurden, zeigten keine dem Myasthenikerserum entsprechenden Wirkungen von Milchsäure an diesem Präparat. Im Gegenteil wurde die Wirkung einer nachfolgenden Azetylcholingabe durch die Milchsäure eher noch verstärkt.

Die vorliegende Arbeit hat also gezeigt, daß bei der Myasthenie mit großer Sicherheit ein Ermüdungsstoff auftritt, der die Azetylcholinwirkung in bestimmten biologischen Versuchsanordnungen hemmen kann. Es konnten auch mehrere Aussagen über chemische und physikalische Eigenschaften dieses Faktors gemacht werden. Der verwendete Froschherztest hat sich für diese Untersuchungen als wertvoll erwiesen. Außerdem wurde auch deutlich, daß die große Instabilität des Ermüdungsstoffes eine bisher nicht überwundene Schwierigkeit für seine chemische Identifizierung darstellt.

ZUSAMMENFASSUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

1. Frisches Myasthenikerserum schwächt die Azetylcholinwirkung am durchbluteten Froschherzen in situ ab.
2. Das Ausmaß der Myasthenikerserum-Wirkung und die Schwere des klinischen Krankheitsbildes gehen parallel.
3. Kontrolluntersuchungen am frischen Normalserum, die in 37 Experimenten angestellt wurden, ergeben ein statistisch gesichertes Abweichen der Wirkung des Normalserums vom Myasthenikerserum.
4. Auch nach dem Grosse-Brockhoffschen Arbeitsversuch unterscheidet sich die Wirkung des Normalserums in unserem Test von der Wirkung des Myasthenikerserums.
5. Die Wirksamkeit des Myasthenikerserums nimmt mit zunehmender Verdünnung ab.
6. Die Wirksamkeit des Myasthenikerserums nimmt in vitro ab, und zwar umso schneller, je höher die Außentemperatur ist. Die Abnahme ist innerhalb der ersten beiden Stunden am stärksten. Nach 5-6 Stunden ist die Wirksamkeit praktisch aufgehoben.
7. Durch 10 Minuten langes Erhitzen des Myasthenikerserums auf 56°C geht seine Wirksamkeit verloren. Dasselbe tritt nach einer 2 Minuten langen Erhitzung auf 60°C ein.
8. Der Abfall der Myasthenikerserum-Wirksamkeit in vitro ist bei herabgesetzter Temperatur, das heißt unter 0°C geringer als bei Zimmertemperatur.
9. Die Wirkung des ultrafiltrierten Myasthenikerserums ist geringer als die des nicht filtrierten. Die Wirksamkeit des Filtrerrückstandes ist größer als die des Filtrates. In einzelnen Versuchen ist sie sogar größer als die des nicht behandelten Myasthenikerserums.
10. Behandlung mit Äthanol, Säure oder Lauge entaktiviert das Myasthenikerserum nur teilweise; kochendes Äthanol entaktiviert vollständig. (Hitzeentaktivierung).
11. Der Azetylcholineffekt wird durch 0,17 %ige Milchsäure (einem der Blutmilchsäure nach Arbeit entsprechenden Wert) nicht beeinflusst. Der Myastheniefaktor ist also nicht mit Milchsäure identisch.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Privatdozent Dr. Erbslöh für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit danken.

Anleitung, zahlreiche Ratschläge und wertvolle Hinweise verdanke ich Herrn Dr. Fritz Baumgarten.

Ebenso bin ich Herrn Dr. A. Struppler und Herrn Dr. P. Decker für Anregungen und technische Hilfe verbunden.

In gleicher Weise gilt mein Dank auch Herrn Professor Dr. Dr. G. Bodechtel, der es mir ermöglichte, in der seiner Leitung unterstellten Klinik zu arbeiten

LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) Baumgarten F. u. Koch E. : Med. Wschr. (1948)
- 2.) Becker P E. : Handb. d. Inn. Med. IV 5/2 S. 944 (1953)
- 3.) v. Bergmann G. : Handb. d. Neurol. 16, 1016 (1936)
- 4.) Bumke u. Foerster: Handb. d. Neurol. 16, 1005 (1936)
- 5.) Cushman H. : Mü. Med. Wschr. 2, 191 (1924)
- 6.) Churchill u. Davidson: Journ. of Neurol. 15, 129-133 (1952)
- 7.) Dainow I. : Revue medicale de la Suisse Romande 9, 520
- 8.) Dale H. H. : Journ. of Physiol. 86, 353 (1936)
- 9.) Djuricic I. : Arch. f. Psych. 111, 48 (1940)
- 10.) Donald F. : Zentralbl. d. ges. Neurol. u. Psych. 129, 143 (1954)
- 11.) Dresel B. : Handb. d. Neurol. 16, 1016 (1936)
- 12.) Mc. Eachern: Acad. Med. 27, 3-23 (1951)
- 13.) Engelhardt E. : Pflügers Arch. 225, 725-732 (1930)
- 14.) Feldberg W. : Arch. exper. Path. and Pharm. 170, 172 (1933)
- 15.) Frey G. : Ärztl. Wschr. 300-303 (1954)
- 16.) Gleissner A. : Zentr. Bl. d. Neurol. (1953)
- 17.) Gremels H. : 42, 55 (1939)
- 18.) Grob D. : Amer. Journ. Med. 15, 695-709 (1953)
- 19.) Grosse-Brockhoff u. Welte: Dtsch. Wschr. 21, 698 (1944)
- 20.) Jolly: Zitiert nach Becker: Handb. d. Inn. Med. 4, 944 (1953)
- 21.) Kahlson G. : Arch. Exp. Path. and Pharm. 169, 34 (1933)
- 22.) Kahlson G. : Arch. Exp. Path. and Pharm. 175, 98 (1934)
- 23.) Kahlson G. : Arch. Exp. Path. and Pharm. 169, 34 (1926)
- 24.) Knoblauch: Zitiert v. Curshmann: Handbuch d. Neurol. 16, 1019/36
- 25.) Koller: Graphische Tafeln, Verlag Dr. D. Steinkopf, Darmstadt (1953)
- 26.) Kramer: Lehrb. d. Nervenkrankh. 2. Aufl. 312 (1925)
- 27.) Lanzcoz A. : Pflügers Arch. 225, 195 (1930)
- 28.) Lazar: Mü. Dissertation 1954
- 29.) Lesney I. : Zentralbl. d. Neurol. u. Psych. 110, 434 (1950)
- 30.) Levy J. : Rona Ber. 172, 93 (1955)
- 31.) Loewi O. : Arch. d. ges. Phys. 204, 629 (1924)
- 32.) Loewi O. : Arch. f. d. ges. Phys. 189, 239 (1921)
- 33.) Loewi O. : Arch. f. d. ges. Phys. 193, 201 (1921)
- 34.) Loewi O. : Arch. f. d. ges. Phys. 203, 408 (1924)
- 35.) Loew M. : Dissertation (1954) München
- 36.) Markeloff G. : Arch. d. Psych. u. Nervenkrankh., 49, 483 (1912)
- 37.) Molios u. Frazier: Zit. v. Curshmann im Handb. d. Neurol. 16, 1016 (1936)

- 38.) Möckesch M. : Dissertation (1954) München.
- 39.) Oppenheim: Zitiert v. Curshmann im Handb. d. Neurol. 16, 1005 (1936)
- 40.) Riesser O. : Muskelpharmakologie, Huber-Verlag (1949)
- 41.) Russel D. / Journ. of Pathol. 65, 279
- 42.) Säcker: Zitiert von Schaltebrand G. : German Science Neurol. 2, 25 (1939)
- 43.) Schwab Ch. : Journ. Americ. Med. Assoc. 153, 1270 (1953)
- 44.) Straub: Arch. f. exper. Path. 182, 331 (1936)
- 45.) Straub: Biochem. Zeitschr. 28, 395 (1910)
- 46.) Struppler A. : Klin. Wschr. 115-118 (1953)
- 47.) Torda u. Wolff: Arch. intern. Med. 80, 68 (1947)
- 48.) Torda u. Wolff: Proc. Soc. Exper. Biolog. u. Med. 71, 432 (1949)
- 49.) Tunestam: Acta paediatr. 39, 395 (1950)
- 50.) Walker M. : Proceedings of R. Soc. of Med. 28, 795 (1935)
- 51.) Welte E. : Fortschr. d. Neurol. 21, 57-77 (1953)
- 52.) Welte E. : Zentrbl. f. Neurol. u. Psych. 119, 159 (1952)
- 53.) Wilson A. : Zentrbl. f. Neurol. u. Psych. 119, 379 (1952)
- 54.) Wilson u. Stoner A.B. : Quart. J. Mes. 13, 1 (1944)
- 55.) Wilson A. u. Stoner A.B. : Quart. J. Mes. 13, 1 (1944)
- 56.) Zack E. : Dtsch. Zeitschr. f. Nervenheilk. 175, 542 (1934)
- 57.) Zinnitz F. : Arch. f. exper. Path. 189, 379 (1938).

LEBENS LAUF

Am 27. 12. 1929 wurde ich als Tochter des Musikers Albrecht Sacher und seiner Frau Berta in Agram geboren. Bis 1940 besuchte ich dort die Deutsche Private Volksschule. Der Krieg auf dem Balkan sowie die schlechten Aussichten für die Zukunft veranlaßten meine Eltern das Land zu verlassen. - In Linz a. D. erhielt 1941 mein Vater ein Engagement am Landestheater. Bis 1943 ging ich dort in die Oberrealschule.

Wegen der häufigen Fliegerangriffe auf die Stadt, evakuierte man meine Mutter, meine Schwester und mich nach Karlsbad, unserer eigentlichen Heimat. Bis 1945 ging ich dort in die Oberrealschule.

1945 erfolgte die Ausweisung durch die Tschechen und die Aussiedlung nach Hollenbach bei Neuburg a. D. Ich wohnte bei meiner Tante in Dinkelsbühl und besuchte die dortige Oberrealschule.

Nach zwei Jahren verschlimmerte die Währungsreform die finanzielle Lage meiner Verwandten so, daß ich zu meinen Eltern nach Hollenbach zurückkehren mußte.

1950 machte ich in Neuburg a. D. das Abitur und begann in Regensburg mit dem Medizinstudium. Das Physikum legte ich dort 1953 ab.

